

Besides the main topic this book also treats of

Subject No.	*On page*	*Subject No.*	*On page*

Besides the main topic this book also treats of

Subject No.	*On page*	*Subject No.*	*On page*

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Über die baktericide Wirkung der Seifen. Vom Assistenten Dr. Dániel Konrádi. (Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ung. Franz-Joseph-Universität in Kolozsvár. Direktor: Dr. Joseph v. Löte, o. ö. Professor.)

Fleischvergiftung und Typhus. Von Prof. E. Levy und Dr. Erwin Jacobsthal. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Strafsburg.)

Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. Von Dr. Paul Theodor Müller, Assistent am Institute. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Graz.)

Einsendungen beliebe man an ***Prof. Rubner, Berlin C., Klosterstr. 36,*** *zu richten.*

Bacteriol.

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG WIEN LEIPZIG BERLIN.

VIERUNDVIERZIGSTER BAND. 1. HEFT.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1902.

Inhalt.

Seite

Über die Beeinflussung der Alexinwirkung durch Absorption.

Ein Beitrag zur Kenntnis der natürlichen Schutzstoffe des Blutes.

Von

Dr. M. Wilde.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität München.)

Einleitung.

Wenn auch die mit soviel Eifer und Erfolg betriebenen neueren Forschungen über natürliche und künstliche Immunität noch zu keiner vollständigen Einigung über die Natur und Wirkungsweise der dabei beteiligten Körper geführt haben, in einem Punkte stimmen alle maſsgebenden Forscher überein: Die specifisch baktericiden und globuliciden Immunsera verdanken ihre Eigenschaften in vitro dem Zusammenwirken von zwei Substanzen, dem gegen Erhitzen auf 55° widerstandsfähigen, durch die Immunisierung entstehenden Immunkörper und einer durch halbstündiges Erhitzen auf die gleiche Temperatur unwirksam werdenden, schon im normalen Serum vorhandenen Substanz, welche wir mit Buchner als Alexin bezeichnen, während sie von Ehrlich und Morgenroth Addiment oder Komplement, von Metchnikoff Cytase benannt wurde. Dieses Resultat, welches wir besonders den Untersuchungen von Bordet und Ehrlich und Morgenroth verdanken, läſst uns aber die Wichtigkeit und Bedeutung dieser thermolabilen Komponente für etwaige Heilversuche mit derartigen baktericiden Seren um so gröſser erscheinen; während wir den notwendigen specifischen Immunkörper durch Vorbehandlung eines Tieres mit den betreffenden Bakterien relativ leicht erzeugen können, muſs das Alexin von

dem erkrankten Organismus selbst geliefert werden; alles kommt darauf an, dafs der betreffende Immunkörper die andere unbedingt notwendige Komponente in genügender Menge vorfindet, wenn die gewünschte Heilwirkung zu stande kommen soll. Damit erhält das Studium des Alexins wieder eine erhöhte Wichtigkeit; erst wenn wir die Bedingungen, unter welchen es entsteht, wirkt und verschwindet, erkannt haben, wird auch eine auf die Vermehrung bezw. Erzeugung desselben hinzielende Behandlung Erfolg haben können.

Die eingehendsten Untersuchungen über Natur und Eigenschaften der Alexine hat schon ihr Entdecker H. Buchner mit seinen Schülern (s. Litteraturverz. 1 u. 2) angestellt; seine klassischen Arbeiten lehrten uns ihre leichte Zerstörbarkeit durch höhere Temperatur, Licht, längeres Aufbewahren und die Beeinflussung durch den Salzgehalt des umgebenden Mediums kennen. Auch war er der Erste, welcher auch die globulicide Wirkung der normalen Sera auf fremde rote Blutkörperchen auf die Thätigkeit der Alexine zurückführte. Besonders interessant und wichtig aber blieb natürlich ihre Wirkung auf die pathogenen Mikroorganismen. Dabei zeigte sich nun bald, dafs auch letztere die Alexine beeinflussen.

Die ersten Mitteilungen hierüber machte Nissen[3]). Er zeigte, dafs das Blut eines Tieres an mikrobicider Kraft verliert, wenn vorher gröfsere Mengen von Bakterien in die Blutbahn desselben gebracht wurden. Dabei beobachtete er, dafs die Wirkung der injicierten Mikroorganismen gewissermafsen eine specifische ist, insofern durch Injektion einer Emulsion des Mikrococcus aquatilis vorzugsweise die bactericide Wirkung des Blutes auf diesen, nicht so sehr auf Cholera- oder Typhus-Bacillen herabgesetzt wurde und umgekehrt.

In der grofsen Zahl von Arbeiten, welche sich in den folgenden Jahren mit den baktericiden Wirkungen der Körpersäfte beschäftigten, erfuhren die Ergebnisse Nissens teils Bestätigung, teils Widerspruch. Hier seien nur die Wichtigsten erwähnt, in welchen auch die Einwirkung, welche Bakterien ihrerseits auf die Schutzstoffe des Blutes ausüben, mehr oder minder ein-

gehende Berücksichtigung fand. An die Versuche Bonaduce's[4]), welcher gefunden hatte, dafs sowohl in vitro wie im Tierkörper der Zusatz von toten Milzbrandbakterien die Entwicklung und Vermehrung der lebenden begünstigte, knüpft Kruse[5]) seine theoretischen Betrachtungen; als Schutz für ihren Kampf gegen die Alexine des Körpers besitzen die pathogenen Mikroorganismen besondere specifische Angriffstoffe. Diese, als »Lysine« bezeichneten Substanzen haben die Fähigkeit, die Schutzstoffe des Blutes zu neutralisieren.

Bastin[6]) und später Denys und Kaisin[7]) untersuchten den Einflufs, welchen die Injektion grofser Bakterienmengen auf das mikrobicide Verhalten des Blutes ausübt; stets fanden sie die Baktericidie desselben dadurch herabgesetzt, gleichgültig, ob lebende oder tote Kulturen verwendet wurden. Auch galt diese Herabsetzung nicht nur für die injicierten, sondern auch für andere Mikroorganismen.

Die auf Anregung Buchners entstandene Arbeit von Schneider[8]) beschäftigte sich mit dem Einflufs, welchen die Bakterien und ihre Produkte auf die Alexine ausüben. Der Autor kommt zu dem Ergebnis, dafs die Verminderung der Baktericidie, welche gegenüber Cholera- oder Typhusbacillen in dem mit abgetöteten Bouillonkulturen dieser Mikroorganismen versetzten Kaninchenblut oder Serum zu konstatieren ist, nicht so sehr einer direkten Begünstigung ihrer Entwicklung durch die Zersetzungsstoffe derselben, als vielmehr der Schädigung der Alexine zuzuschreiben ist.

Angeregt durch diese Beobachtungen, stellte Bail[9]) seine trefflichen und eingehenden Untersuchungen über die Einwirkung abgetöteter Bakterien auf die Serumalexine an. Zunächst zeigt Bail, dafs die Art der Abtötung der Bakterien für die alexinparalysierende Fähigkeit derselben gleichgültig ist; durch Hitze, Chloroform oder Äther getötete Kulturen wirken in gleicher Weise. Sehr eingehend studiert dann Bail die quantitativen Verhältnisse, wobei auch die von Nissen angeregte Frage der Specifität der Wirkung solcher abgetöteter Bakterien einer sehr gründlichen Prüfung unterzogen wurde. Bail kommt dabei

nach eingehender Würdigung der in Betracht kommenden Faktoren, also nicht nur der Empfindlichkeit der lebenden Bakterien für die Wirkung der Alexine, sondern auch ihres verschieden grofsen Neutralisierungsvermögens gegen die Alexine zu dem Schlufs, dafs die anscheinend qualitativ specifische Wirkung toter Bakterien lediglich quantitativer Natur ist. Im Hinblick darauf sagt er ausdrücklich: »Ist also die Widerstandsfähigkeit der lebenden Bakterien sehr hoch, wie es sich in den letzten Versuchen für den Staphylokokkus glücklich getroffen hatte, so braucht der von den toten Zellen auf die Alexine ausgeübte Einflufs nur gering zu sein. Ist hingegen die Widerstandskraft, wie beim Cholera- oder Typhusbacillus, sehr gering, so fällt den toten Zellen die Paralysierung der Alexine fast allein zu und $\mu + \sigma$ (d. h. Menge und Neutralisierungsvermögen der toten Bakterien) mufs einen hohen Wert annehmen.«

Im Anschlufs an die Arbeit von Schneider wurde auch der Anteil löslicher Stoffwechselprodukte an der Neutralisierung der Alexine geprüft; nach den zwei mitgeteilten Versuchsprotokollen waren kleinere Mengen erhitzter und filtrierter Bouillonkulturen kaum, jedenfalls aber viel weniger wirksam als die nicht filtrierter. Erst bei Zusatz gröfserer Mengen zeigte sich auch bei ersteren ein fördernder Einflufs auf das Bakterienwachstum.

Obwohl nun Bail schon ausdrücklich darauf hingewiesen hatte, dafs die Aufhebung der baktericiden Kraft nicht durch den gewissermafsen überkompensierenden Einflufs etwaiger in den toten Bakterienleibern enthaltener Nährstoffe bedingt sein könne, fühlte sich Baumgarten[10]) bei seiner bekannten Stellungnahme gegen die Alexintheorie überhaupt, doch bewogen, diesen Einwurf gegen Bails Resultate zu erheben. Er sieht in der unter der Einwirkung der toten Bakterien eintretenden Vermehrung bezw. verhinderten Abtötung der lebenden Keime nur den Ausdruck des dadurch verbesserten Nährmittels, ohne aber irgendwie den Beweis zu erbringen, dafs thatsächlich tote Bakterien so gute Nährstoffe für lebende Mikroorganismen enthalten können.

Auch Conradi[11]) erörtert in seiner Abhandlung »Über Baktericidie und Milzbrandinfektion« die Aufhebung der mikrobiciden Wirkung des Kaninchenserums, welche dasselbe nach den Versuchen von Denys und Kaisin durch vorherige Einspritzung von anthraxbacillenhaltiger Emulsion erleidet. Er kommt im Gegensatz zu den belgischen Autoren zu einem ganz negativen Resultat. Weder durch Einbringen toter Bakterien in die Blutbahn liefs sich eine merkbare Abnahme der Alexinwirkung erreichen, noch auch zeigte das Serum mit Milzbrand inficierter Tiere, selbst wenn die Bakterien schon im Blute vorhanden waren, eine Verminderung des Gehaltes an Schutzstoffen Dem gegenüber konnte ich[12]) bei einer Nachprüfung dieser Verhältnisse zeigen, dafs, wenn nur die Blutentziehung zu einer Zeit der Erkrankung vorgenommen wird, in welcher der Kreislauf des inficierten Kaninchens thatsächlich mit Milzbrandbacillen überschwemmt ist, auch ein völliges Verschwinden oder doch schnell zunehmende Verminderung der Schutzstoffe zu konstatieren ist.

Schon Buchner hatte die völlige Analogie beobachtet, welche in der Wirkung des frischen Serums auf pathogene Mikroorganismen und auf die roten Blutkörperchen einer fremden Species besteht und sowohl für die Bakteriolyse wie die Hämolyse die Alexine als Ursache erkannt. Bordet zeigte dann, dafs man ebenso wie gegen Bakterien auch gegen rote Blutkörperchen immunisieren, d. h. durch Injektion von fremden Erythrocyten in den Warmblüterorganismus in dem Blutserum desselben die Fähigkeit erzeugen oder steigern kann, diese fremden Blutkörperchen aufzulösen. Er fand auch, dafs dabei in dem Blute des vorbehandelten Tieres ein neuer Körper, die »substance sensibilisatrice« auftritt, welche die betreffenden roten Blutkörperchen erst der Wirkung des Alexins zugänglich macht.

An diese grundlegende Arbeit Bordets knüpfen die ausführlichen Studien Ehrlichs und Morgenroths[14]) über die Hämolysine an. Für unsere Betrachtung sind sie insofern von Bedeutung, als die genannten Forscher bei der Deutung ihrer Ergebnisse im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie zu einer

von den Ansichten Bordets und Buchners wesentlich abweichenden Anschauung über die Natur der Alexine gelangen. Auch die baktericide und hämolytische Aktion der normalen Sera beruht nach Ehrlich und Morgenroth auf dem Zusammenwirken zweier Substanzen: einem thermostabilen Zwischenkörper, welcher dem Immunkörper der specifischen Sera analog, und also ebenfalls eine freie Seitenkette, einen Amboceptor darstellt, und dem thermolabilen Komplement, dem Alexin Buchners entsprechend. Der Unterschied zwischen letzteren ist der, dafs das Komplement für sich allein den Erythrocyten bezw. Bakterien gegenüber völlig machtlos ist; erst nachdem der Zwischenkörper sich mit seiner einen haptophoren Gruppe mit dem Receptor des Reaktionskörpers verbunden hat, kann das an der anderen haptophoren Gruppe verankerte Komplement seine tötende bezw. auflösende Wirksamkeit äufsern. Ebenso wie die durch Vorbehandlung erzeugten Amboceptoren der Immunsera, sind nun auch nach Ehrlich und Morgenroth die Zwischenkörper der normalen Sera specifischer Natur; d. h. für jede besondere hämolytische oder baktericide Leistung eines Serums ist auch ein besonderer Zwischenkörper vorhanden, ja die genannten Autoren gehen noch weiter und glauben aus ihren Versuchen den Schlufs ziehen zu können, dafs in jedem Serum auch eine Vielheit von Komplementen gleichfalls specifischer Natur vorhanden sei, wenn auch mit der Einschränkung, dafs ein Komplement auf mehrere, verschiedene Amboceptoren passen könne.

Im Buchnerschen Laboratorium wurde zwar auch die Existenz solcher, die Wirkung des Alexins begünstigender, hitzebeständiger Substanzen im normalen Serum bestätigt; aber Buchner[23]) hält, so lange ihre Natur und Bedeutung noch nicht näher bekannt ist, vorerst den Namen von hämolytischen bezw. baktericiden Hilfskörpern für passender, zumal ihre Specifität und unbedingte Notwendigkeit, welche sie doch erst mit den eigentlichen Immunkörpern auf eine Stufe stellen würde, noch nicht erwiesen ist.

Bordet und Gengou[15]) wandten sich besonders gegen die Ehrlichsche Ansicht von der Pluralität der Alexine

(Komplemente) eines Serums; ihre Versuche sind für uns insofern von besonderem Interesse, als sie sich zum Nachweis der Einheit des Alexins der Absorbierbarkeit desselben bedienten. Nach den Erfahrungen der genannten Forscher besitzen rote Blutkörperchen und Bakterien, welche mit einem specifischen Immunkörper beladen »sensibilisiert« sind, zum Alexin eine sehr gesteigerte Verwandtschaft und reifsen dasselbe mit Begier an sich. Wären nun in einem Serum mehrere funktionell verschiedene Alexine vorhanden, so müfste ein sensibilisiertes rotes Blutkörperchen doch auch nur das für seine Auflösung passende Alexin absorbieren, dagegen die für die Auflösung anderer Arten von Erythrocyten oder Bakterien bestimmten Alexine des Serums unbeeinflufst lassen; der Versuch ergibt dagegen, dafs durch Zusatz nur eines entsprechend sensibilisierten Elementes alles Alexin absorbiert werden kann, so dafs später hinzugefügte, ebenfalls mit einem Immunkörper beladene, also hoch empfindliche Blutkörperchen oder Bakterien völlig intakt bleiben.

Aber auch Ehrlich und seine Schüler suchten diese Eigenschaft der Absorbierbarkeit des Alexins zur Stütze ihrer Ansichten zu verwerten. So führt Neisser[16]) für die Vielheit der Komplemente neben den Versuchen Bails, welche er in einer von den Ausführungen dieses Autors selbst abweichenden Weise für seine Ansicht verwertet, noch eine andere diesbezügliche Beobachtung an. Nach Neisser nehmen Milzbrandbakterien aus Kaninchenserum zwar wohl das ihnen schädliche, nicht aber das bei der Auflösung von Hammel- und Ziegenblutkörperchen wirksame Komplement fort, so dafs also durch Kontakt mit Anthraxbacillen das Kaninchenserum nur seiner baktericiden Wirkung auf diese Bakterien, nicht aber seiner Globulicidie auf die Erythrocyten der genannten Tierspecies verlustig ging, woraus sich dann die Pluralität der Komplemente ergeben würde.

Besonders wichtig aber sind für uns die gleichfalls aus Ehrlichs Laboratorium hervorgegangenen Untersuchungen von v. Dungern[17]), welche sich allerdings nur auf die Herabsetzung bezw. Aufhebung der hämolytischen Aktion der normalen Sera erstrecken. Von Dungern geht dabei von der durch Ehrlich

und Morgenroth festgestellten Thatsache aus, dafs Hammelblut-Erythrocyten in normalem Ziegenserum keine Veränderung erleiden, aber auch ihrerseits den Komplementgehalt desselben unverändert lassen. Ein gleiches Verhalten zeigen in beiden Hinsichten Rinderblutkörperchen in Kaninchenserum. Werden nun aber andere Zellen des Rinderorganismus z. B. Trachealepithelien, ferner Leber-, Gehirn- und Hodenzellen mit demselben Serum in Kontakt gebracht, so ergibt sich eine mehr oder minder bedeutende Abnahme der globuliciden Kraft. Auch die Organzellen anderer Tiere (Ratte, Meerschweinchen) hatten denselben Effekt, wobei sich allerdings erhebliche quantitative Differenzen, je nach der Art des Organs und der Tierspecies, herausstellten. Besonders auffallend war aber, dafs auch durch die Körperzellen desselben Tieres, also z. B. Rinder-Nierenzellen in Rinderserum, die Komplementwirkung des letzteren aufgehoben wurde. Auch Bakterien- und Hefezellen waren in gleichem Sinne wirksam. In zweierlei Weise konnte diesen Elementen die Fähigkeit, einem Serum das Komplement zu entziehen, genommen werden. Erstens durch Erhitzen auf Siedetemperatur — Milzbrandbakterien, die kurze Zeit bei 98° gehalten wurden, hatten ihre Wirkung auf Kaninchenserum eingebüfst — zweitens durch vorherigen Kontakt mit einem anderen Serum, so zwar, dafs z. B. Rindernierenzellen, welche eine Zeitlang mit Rinderserum in Kontakt gewesen waren, dann abcentrifugiert und mit Kaninchenserum gemischt wurden, in diesem keine Herabsetzung der globuliciden Eigenschaften mehr verursachten.

Diese kurze Übersicht der wichtigsten einschlägigen Arbeiten möge hier genügen, zumal sich im Laufe meiner Arbeit noch öfter Gelegenheit bieten wird, auf die Beobachtungen und Ansichten dieser und anderer Autoren einzugehen. Mafsgebend für mich, eine eingehende Prüfung der Veränderungen vorzunehmen, welche die aktiven Eigenschaften normaler Sera durch den Kontakt mit fremden Substanzen erfahren, waren besonders folgende Gesichtspunkte: durch Bails Arbeit war festgestellt, dafs durch Zusatz abgetöteter Bakterien die baktericide Wirkung

von Kaninchenserum für die verschiedensten pathogenen Mikroorganismen herabgesetzt, bezw. aufgehoben werden kann. Während Bail die Ursache hierfür in einer Beeinflussung der Alexine sieht, glaubt Baumgarten, die Beeinträchtigung der Baktericidie durch die günstige Wirkung etwaiger, mit den toten Bakterien zugeführter Nährstoffe erklären zu können; wenn sich nun trotz der Zufuhr der toten Bakterien und damit ihrer Nährstoffe eine Beeinflussung des Alexins verhindern und damit ein Fortbestehen seiner mikrobiciden Eigenschaften erreichen liefs, so war damit die Nichtigkeit des Baumgarten'schen Einwandes bewiesen. Ebenso wenn sich die Aufhebung der Hämolyse, bei welcher doch solche Nährstoffe keine Rolle spielen können, als parallel verlaufend mit der Verhinderung der Baktericidie zeigte. Wichtiger aber war die Frage, ob sich im Hinblick auf die Angabe Neissers auch bei anderen Kombinationen von Serum und Bakterien qualitative Verschiedenheiten in der Aufhebung der baktericiden und hämolytischen Aktion finden liefsen. Eine Differenz zwischen den Angaben Bails und v. Dungerns legte diese Möglichkeit nahe: denn während Bail in der Mehrzahl seiner Versuche durch Kochen abgetötete Bakterienemulsion verwendete, und damit das Verschwinden der Baktericidie erzielte, gibt v. Dungern an, dafs die Bindungsfähigkeit der Milzbrandbakterien für das hämolytische Agens durch Siedetemperatur zerstört wurde. Ergaben sich nun bei gleichzeitiger Untersuchung der Beeinflussung beider Funktionen normaler Sera thatsächlich derartige prinzipielle Unterschiede, so erhielt dadurch Ehrlichs plurimistische Auffassung der Alexine eine wichtige Stütze, während anderseits bei der einheitlichen Anschauung im Sinne Buchners und Bordets nur quantitative Differenzen zu erwarten standen. In letzterem Falle mufste es gelingen, durch Zusatz einer genügend grofsen Menge von absorbierender Substanz alle aktiven Eigenschaften der Sera zum Verschwinden zu bringen. Weiterhin erschien mir ein eingehenderes Studium der Bindung des Alexins durch sonstige fremde Substanzen im Anschlufs an die Versuche v. Dungerns mit Organzellen sowohl in vitro wie im Tier-

versuch wünschenswert. Letzteres besonders mit Rücksicht auf die von seiten der Metchnikoffschen Schule bestrittene Wirksamkeit des Alexins für die Abtötung von Infektionserregern auch im lebenden Organismus[1]).

Die Absorption des Alexins durch abgetötete Bakterien.

Zunächst studierte ich den Einflufs von Emulsionen toter Bakterien auf die aktiven Eigenschaften der normalen Sera, und zwar wählte ich für diese Versuche Rinder-, Hunde- und Kaninchen-Serum, welche stets in genügender Menge und ohne zu grofse Kosten zu beschaffen waren. Mehr als 24 Stunden alte Sera wurden nicht verwendet. Die Bakterien-Emulsionen bereitete ich in der Weise, dafs die mit den betreffenden Mikroorganismen Agar-Agar-Kulturen in Kolleschen Schalen 24—48 Stunden bei 37° gehalten wurden. Der meist recht üppige Bakterienrasen wurde mit einem Platinspatel abgeschabt, natürlich ohne etwas von dem Nährsubstrat mitzunehmen und in sterilem Mörser sorgfältig mit 0,8 proz. Kochsalzlösung verrieben. Da einige Vorversuche bald zeigten, dafs durch Erhitzen auf 100° das Bindungsvermögen der Bakterien für das Alexin keineswegs aufgehoben oder erheblich beeinträchtigt wurde, so wurden diese Emulsionen stets durch ein halb oder einstündiges Erhitzen auf Siedetemperatur sterilisiert. (Die Milzbrandemulsionen auch durch einstündiges Erhitzen auf 120°). Je nach Üppigkeit der Bakterien-Entwicklung wurde der Inhalt einer Kolleschale in 5,10 oder 15 ccm Kochsalzlösung suspendiert. Die so erhaltenen Bakterienaufschwemmungen reagierten bei den untersuchten Arten stets ganz schwach alkalisch. Durch ihren Zusatz zu dem stärker alkalischen aktiven Serum wurde dasselbe also zweifellos etwas in seiner Alkalescenz herabgesetzt, dafs diese aber für die Aktivität desselben ohne erhebliche Bedeutung ist, zeigen die stets mit der gleichen Menge der völlig neutralen Kochsalzlösung versetzten Serumproben. Als Prüfungsobjekte im baktericiden Versuch benutzte ich durchgehends

1) Über einen Teil der Versuche mit abgetöteten Bakterien habe ich bereits eine Mitteilung veröffentlicht[24]).

einen für die Alexinwirkung aller drei Sera sehr empfindlichen Stamm von Cholera- und Typhusbacillen, welche wegen ihrer Wachstums- und Vermehrungsbedingungen für bakericide Versuche am geeignetsten sind. Gelegentlich wurden auch Kulturen von Milzbrand und Prodigiosus-Bacillen, von Staphylokokken und Bakterium coli zum Vergleich herangezogen. Von den 24-stündigen verdünnten oder unverdünnten Bouillonkulturen dieser Mikroorganismen wurde dann ein Tropfen zu allen Proben hinzugefügt und in der üblichen Weise durch Entnahme einer Öse und Zählung der Kolonien die Entwicklung der eingesäten Art verfolgt. Die letzterwähnten 4 Mikroorganismenarten haben aber den Nachteil, dafs sie gegen die Schutzstoffe der verschiedenen Sera auch eine sehr wechselnde Empfindlichkeit besitzen. So werden z. B. Milzbrandbacillen vom Kaninchenserum ziemlich gut, vom Rinderserum wenig, vom Hundeserum fast gar nicht abgetötet, obwohl auch hier zwischen den Sera verschiedener Individuen derselben Tierspecies erhebliche Differenzen zu beobachten sind.

Als Reaktionskörper für die globulicide Aktion benutzte ich zunächst Meerschweinchenblutkörperchen, welche von allen 3 Sera angegriffen werden. Ferner für Kaninchen- und Rinderserum auch sensibilisierte, d. h. mit spezifischem Immunkörper beladene, rote Rinderblutkörperchen. Für Hunde- und Rinder-Serum Kaninchen- und gelegentlich auch Pferde-Erythrocyten. Nach Zusatz der betreffenden roten Blutkörperchen, welche als 10 oder 20 proz Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung in Anwendung kamen, wurden die Röhrchen 2 Stunden bei 37° gehalten, dann centrifugiert, oder im Eisschrank sedimentieren gelassen und darnach das Resultat festgestellt. Dies Verfahren wurde bei allen hämolytischen Versuchen beibehalten.

Bevor ich nun die Resultate dieser Versuche in extenso mitteile, seien hier noch vorerst die allgemeinen Bedingungen, unter welchen die Absorption des Alexins überhaupt vor sich geht, erörtert. Von wesentlichem Einflufs ist zunächst Menge und Zeit: um die vollständige Aufhebung der baktericiden und

hämolytischen Funktion eines Serums zu erreichen, mufs die absorbierende Substanz sowohl in hinreichender Menge, wie eine gewisse Zeit mit dem Serum in Contact bleiben. Den Einflufs beider Momente mögen folgende Tabellen veranschaulichen. Bei diesen wie bei allen späteren Versuchen wurden vor Zusatz der lebenden Bacillen bezw. Erythrocyten die toten Bakterien resp. die übrigen Absorptionskörper auf einer Centrifuge mit hoher Tourenzahl abcentrifugiert.

Tabelle I.

Aktives Rinderserum. Emulsion des Bact. Megatherium.

A. Baktericider Versuch: Alle Röhrchen wurden 1/2 Stunde bei 37° gehalten, dann die toten Bakterien abcentrifugiert und in alle ein Tropfen Typhusbacillen-Bouillonkultur eingesät.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Meg.-Em.	4 400	23 200	sehr viele	∞
2	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Meg.-Em. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung . . .	3 970	9 830	13 800	ca. 100 000
3	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,25 ccm Meg.-Em. u. 0,75 ccm Na Cl-Lösung . . .	4 780	112	310	5 330
4	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,1 ccm Meg.-Em. u. 0,9 ccm Na Cl-Lösung . . .	4 110	24	10	0
5	2 ccm Rind.-Ser. u. 0 ccm Meg.-Em. u. 1,0 ccm Na Cl-Lösung . . .	4 280	0	0	0
6	2 ccm inakt. Rind.-Serum u. 1,0 ccm Na Cl-Lösung	4 250	21 800	sehr viele	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch: Alle Proben wurden 1/2 Stunde bei 37° gehalten, dann die toten Bakterien abcentrifugiert und zu allen 1 ccm Meerschweinchenblut (verdünnt 1 : 10 Na Cl-Lösung) zugesetzt.

Bezeichnung	Inhalt der Röhrchen	Resultat
a	2 ccm Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Meg.-Em. u. 0 ccm Na Cl-Lös.	keine Lösung
b	2 › › › 0,5 › › › 0,5 › ›	ganz gering. Lösung
c	2 › › › 0,25 › › › 0,75 › ›	vollst. aber verzög.
d	2 › › › 0,1 › › › 0,9 › ›	vollständ. Lösung
e	2 › › › 0 › › › 1,0 › ›	vollständ. Lösung
f	2 › inaktives Rinderserum › 1,0 › ›	keine Lösung

Für die verschiedenen Sera ist die Wirkung derselben Menge Emulsion nicht immer gleich grofs, was wohl in erster Linie durch den verschiedenen Gehalt derselben an Alexinen bedingt wird.

Tabelle II.

Aktives Rinder-, Hunde- und Kaninchenserum; Milzbrandbacillenemulsion.

Alle Röhrchen wurden $1/2$ Stunde bei 37° gehalten, dann abcentrifugiert und in alle ein Tropfen Typhusbacillen-Bouillonkultur eingesät.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	nach 7 Std.	nach 24 St.
1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	24 100	27 000	52 000	sehr viele
2	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung . . .	22 500	890	128	1 104
3	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,2 ccm Milzbr.-Em. u. 0,8 ccm Na Cl-Lösung . . .	21 000	5	0	0
4	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	20 700	0	0	0
5	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl.-L.	24 300	46 800	sehr viele	sehr viele
6	2 ccm Hundeser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	22 800	73 000	sehr viele	sehr viele
7	2 ccm Hundeser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	18 900	1 300	8 190	»
8	2 ccm Hundeser. u. 0,2 ccm Milzbr.-Em. u. 0,8 ccm Na Cl-Lösung	15 400	256	936	»
9	2 ccm Hundeser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	18 800	18	17	192
10	2 ccm inakt. Hundeser. u. 1 ccm Na Cl-L.	22 000	35 000	viele	sehr viele
11	2 ccm Kaninchen-Serum u. 1,0 ccm Milzbr.-Emulsion	19 600	85 000	sehr viele	»
12	2 ccm Kaninchen-Serum u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös.	18 100	20 800	»	»
13	2 ccm Kaninchen-Serum u. 0,2 ccm Milzbr.-Em. u. 0,8 ccm Na Cl-Lös.	19 900	1 010	5 600	sehr viele
14	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-L.	16 200	210	196	viele
15	2 ccm inakt. Kaninch.-Serum u. 1 ccm Na Cl-Lösung	20 100	32 500	sehr viele	sehr viele

Das weniger aktive Kaninchenserum gestattete in diesem Falle den Typhusbacillen noch fast ungehemmtes Wachstum bei Zusatz einer Menge von Milzbrandbacillen (0,5 ccm der Emulsion), welche in dem stärker aktiven Rinderserum die gleichen Bacillen vor starker Verminderung nicht zu schützen vermochte.

Die Absorption des Alexins tritt nicht momentan ein, sondern bedarf einer gewissen Zeit, wofür der folgende hämolytische Versuch als Beleg dienen möge; ausnahmsweise wurden in diesem Falle die Bacillen nicht abcentrifugiert, sondern sofort nach der in der Tabelle angegebenen Zeit die Erythrocyten zugefügt, um eine etwaige Bindung des Alexins während des Centrifugierens auszuschliefsen.

Tabelle III.

Aktives Rinderserum. Milzbrandbacillenemulsion.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz von 1 ccm Meerschwbl. (1 : 10 NaCl)	Resultat
1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	sofort	etwas verzögerte, aber völlige Lös.
2	2 » » » 1,0 » »	n. 5 Min. bei 37°	verspätete u. nicht ganz vollst. Lös.
3	2 » » » 1,0 » »	n. 15 Min. bei 37°	noch mehr verzög. unvollständ. Lös.
4	2 » » » 1,0 » »	n. 1/2 Std. bei 37°	nur noch ganz geringe Lösung
5	2 » » » 1,0 » »	n. 1 Std. bei 37°	keine Lösung
6	2 » » » 1,0 » NaCl-Lös.	n. 1 Std. bei 37°	vollständige Lös.

Im allgemeinen ist nach meinen Erfahrungen in einer halben bis einer Stunde bei 37° die Absorption des Alexins in der Hauptsache abgeschlossen. Dafs aber auch noch späterhin Alexin gebunden werden kann, beweist der folgende Versuch, indem in der ersten Reihe der Röhrchen die toten Bakterien nach halbstündigem Contact abcentrifugiert, in der zweiten Reihe während des ganzen Versuches mit dem Serum zusammenblieben.

Tabelle IV.

Aktives Rinderserum. Milzbrandbacillenemulsion.

Baktericider Versuch. Nach 1/2 stündigem Aufenthalt bei 37° wurden aus Röhrchen A, B, C die Milzbrandbacillen abcentrifugiert; in a, b, c blieben sie während des ganzen Versuches. Einsaat in alle Röhrchen 1 Tropfen verdünnter Cholerabouillonkultur.

	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	7 Std.	24 Std.
A	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. .	5 730	62 000	viele	sehr viele
B	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,25 ccm Milzbr.-Em. u. 0,25 ccm Na Cl-Lösung	5 630	4 190	8 900	18 300
C	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,1 ccm Milzbr.-Em. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung	5 900	10	0	128
a	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em.	5 440	65 300	viele	∞
b	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,25 ccm Milzbr.-Em. u. 0,25 ccm Na Cl-Lösung	5 100	8 200	48 100	∞
c	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,1 ccm Milzbr.-Em. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung	4 920	190	1 750	viele
	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös. .	4 800	0	0	0
	2 ccm inaktives Rind.-Serum u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	5 390	56 000	sehr viele	sehr viele

Die stärkere Beeinträchtigung der Baktericidie in der zweiten Reihe zeigt, dafs noch nach dem Zusatz der lebenden Bakterien Alexin gebunden wurde. Aus praktischen Gründen habe ich in den folgenden Versuchen die abgetöteten Bakterien eine halbe bis 1 Stunde auf das betreffende aktive Serum einwirken lassen und dann abcentrifugiert.

Aufser Zeit und Menge ist aber noch ein drittes Moment, die Temperatur, von wesentlichem Einflufs auf die Absorption des Alexins; gerade so wie dasselbe bei Entfaltung seiner Wirksamkeit auf lebende Bakterien und Erythrocyten von ihr abhängig ist. Ebensowenig wie bei 0° eine Auflösung empfindlicher roter Blutkörperchen erfolgt, wird das Alexin bei dieser Temperatur gebunden. Es unterscheidet sich durch diese Eigenschaft wesentlich von dem Immunkörper, welcher ja nach Ehrlich auch bei 0° von dem betreffenden Reaktionsobjekt gebunden wird. Für den Einflufs der Temperatur werden die gleich anzuführenden baktericiden und hämolytischen Versuche, sowie die Versuche am lebenden Tier genügendes Beweismaterial bieten.

Im Anschlufs an diese allgemeinen Bemerkungen über die Bedingungen der Absorption sei hier noch die Frage erörtert:

kann die Bindung zwischen Alexin und Reaktionskörper sich wieder lösen? Oder, wie Bail sagt, können sich die Alexine wieder regenerieren? Bei der grofsen Wichtigkeit des Problems — hätte sich doch auf diesem Wege die Möglichkeit geboten, das Alexin aus dem Serum zu isolieren — habe ich alles versucht, um zu einem positiven Resultate zu kommen. Die mit Alexin beladenen Bakterien wurden sowohl bei 0°, bei welcher Temperatur ja die Affinität zwischen beiden offenbar geringer ist, also auch bei 37° in inaktivem Serum oder in physiologischer Kochsalzlösung bis zu 12 Stunden aufgeschwemmt gehalten, auch unter Zusatz von sehr empfindlichem roten Blutkörperchen, welche jede Spur von etwa freiwerdenden Alexin durch ihre Auflösung verraten haben würden. Nie habe ich einen positiven Erfolg gehabt, der als Freiwerden oder Regeneration des Alexins gedeutet werden konnte. Auch derartige Parallelversuche, wie der oben mitgeteilte, mit teils abcentrifugierten, teils nicht abcentrifugierten Bakterien, sprechen durchaus gegen einen solchen Vorgang; würde das einmal gebundene Alexin nach einiger Zeit wieder frei, so müfste sich sein Vorhandensein doch wenigstens durch eine gewisse Hemmung der Bakterienentwicklung gegenüber den abcentrifugierten Proben dokumentieren. Aber das Gegenteil ist der Fall. Gerade in den Röhrchen, welche die toten Bakterien bis zum Schlusse des Versuches enthielten, war die Baktericidie geringer.

Auch die von Bail als Beweise für die Möglichkeit der Regeneration angeführten Versuche scheinen mir nicht recht überzeugend. Einerseits fallen die mitgeteilten Kolonienzahlen zum Teil wenigstens in den Bereich der bei baktericiden Versuchen möglichen Fehlergrenzen, anderseits betont auch dieser Forscher ausdrücklich, dafs sich selbst ein solches, immerhin noch zweifelhaftes Resultat nicht ständig erreichen liefs; Bails Urteil ist daher auch sehr vorsichtig gehalten.

Zunächst seien jetzt die Versuche mit abgetöteten Emulsionen von Typhus-, Cholera- und Milzbrand-Bacillen einerseits, gegen Hunde, Rinder- und Kaninchen-Serum anderseits mitgeteilt. Durch einen Vorversuch bestimmte ich, welche Menge der betreffenden

Emulsion zur Verhinderung der Hämolyse von Meerschweinchenblutkörperchen in dem betreffenden Serum erforderlich war. Diese Menge erwies sich dann auch stets genügend, um die baktericiden Eigenschaften des Serums zum Verschwinden zu bringen.

Tabelle V.

Aktives Rinderserum. Emulsion des Typhusbacillus.

A. Baktericider Versuch: Einsaat in die T-Röhrchen einen Tropfen verdünnter Typhusbacillen-Bouillonkultur, in die C-Röhrchen einen Tropfen Choleravibrionen-Bouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse		
		sofort	nach 6 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Typh.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 930	39 100	sehr viele
T_2	2 » » » 0,7 » » » » » 0°	1 880	15	1 100
T_3	2 » » » 0,7 » Na Cl-Lös. » » » 37°	1 710	0	0
T_4	2 » inakt. Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung	2 100	c. 50 000	∞
C_1	2 ccm Rind. Ser. u. 0,7 ccm Typh -Em. 1/2 St. b. 37°	1 090	31 000	viele
C_2	2 » » » 0,7 » » » » » 0°	910	5	0
C_3	2 » » » 0,7 » Na Cl-Lös. » » » 37°	945	0	0
C_4	2 » inakt. Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung	1 035	22 000	viele

B. Hämolytischer Versuch:

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Typh.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1:10 Na Cl-Lösung)	keine Auflös.
M_2	2 » » » 0,7 » » » » » 0°		völlige »
M_3	2 » » » 0,7 » Na Cl-Lös. » » » 37°		» »
K_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Typh.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Kaninchen Bl. (verd. 1:10 Na Cl-Lös.	keine Auflös.
K_2	2 » » » 0,7 » » » » » 0°		völlige »
K_3	2 » » » 0;7 » Na Cl-Lös. » » » 37°		» »
R_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,7 ccm Typh.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm sensibilis. Rind.-Blut (verd. 1:10 Na Cl-L.	keine Auflös.
R_2	2 » » » 0,7 » » » » » 0°		völlige »
R_3	2 » » » 0,7 » Na Cl-Lös. » » » »		» »

Tabelle VI.

Aktives Rinderserum. Emulsion des Vibrio cholerae.

A. Baktericider Versuch. In die mit C bezeichneten Proben wird nach Abcentrifugieren der toten Bakterien ein Tropfen 24stündige Bouillonkultur des Choleravibrio, in die mit T bezeichneten ein Tropfen Typhusbouillon-Kultur eingesät.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse: sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
C_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 Std. bei 37°	21 200	23 000	ca. 100 000	∞
C_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 St. bei 0°	21 600	79	0	8 400
C_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös. 1 St. bei 37°	25 400	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	16 800	27 800	ca. 100 000	∞
T_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 St. bei 37°	24 200	40 600	ca. 100 000	sehr viele
T_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 St. bei 0°	19 200	5 900	624	10 500
T_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös. 1 St. bei 37°	16 600	24	0	0
T_4	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	22 000	ca. 100 000	sehr viele	∞

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 St. bei 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (verd. 1 : 5 Na Cl.-Lös.)	keine Auflös.
M_2	2 » » » 1 » » 1 » » 0°		vollst. Auflös.
M_3	2 » » » 1 » Na Cl-Lös. 1 » » 37°		vollst. Auflös.
K_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Chol.-Em. 1 St. bei 37°	1 ccm Kaninch.-Bl. (verd. 1 : 5 Na Cl.-Lös.)	keine Auflös.
K_2	2 » » » 1 » » 1 » » 0°		vollst. Auflös.
K_3	2 » » » 1 » Na Cl-Lös. 1 » » 37°		vollst. Auflös.

Tabelle VII.

Aktives Rinderserum. Milzbrandbacillen-Emulsion.

A. Baktericider Versuch. 1. Gröfsere Einsaat: In alle Röhrchen ein Tropfen Typhusbacillenbouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	7 Std.	24 Std.
T_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 Milbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	21 500	68 000	sehr viele	sehr viele
T_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 0°.	17 300	54	8	0
T_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37°	15 800	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 0,5 Na Cl-Lös.	18 900	52 000	sehr viele	sehr viele

2. Kleinere Einsaaten: In die T-Röhrchen ein Tropfen verdünnter Typhusbouillonkult., in die C-Röhrchen ein Tropfen verdünnter Cholerabouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse		
		sofort	nach 5 Std.	24 St.
T_5	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	134	3850	85 500
T_6	2 » » » 0,5 » » $^1/_2$ » » 0°	120	0	0
T_7	2 » » » 0,5 » Na Cl-Lös. $^1/_2$ » » 37°	80	0	0
T_8	2 » inakt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös. .	87	6650	218 000
C_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	115	4400	195 000
C_2	2 » » » 0,5 » » $^1/_2$ » » 0°	98	0	0
C_3	2 » » » 0,5 » Na Cl-Lös. $^1/_2$ » » 37°	102	0	0
C_4	2 » inakt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös. .	136	7520	ca. 200 000

B. Hämolytischer Versuch:

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (verd. 1:10 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
M_2	2 » » » 0,5 » » » » » 0°		völlige »
M_3	2 » » » 0,5 » NaCl-Lös. » » » 37°		» »
K_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	1 ccm Kaninchen-Bl. (verd. 1:10 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
K_2	2 » » » 0.5 » » » » » 0°		völlige »
K_3	2 » » » 0 5 » » » » » 37°		» »

Fortsetzung zu Tabelle VII (B. Hämolytischer Versuch).

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
R_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm sensibilis. Rind.-Bl. (verd. 1:10 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
R_2	2 » » » 0,5 » » » » » 0°		völlige »
R_3	2 » » » 0,5 » » » » » 37°		» »

Tabelle VIII.

Aktives Hundeserum. Emulsion der Typhusbacillen.

A. Bakterizider Versuch: Einsaaten wie in Tabelle VI.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. 1/2 Std. b. 37°	2 300	30 800	87 000	sehr viele
T_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. 1/2 Std. b. 0°	2 400	32	110	c. 100 000
T_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös. 1/2 Std. b. 37°	2 500	9	0	0
T_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-L.	2 650	13 700	95 000	sehr viele
C_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. 1/2 Std. b. 37°	650	8 500	sehr viele	sehr viele
C_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh -Em. 1/2 Std. b. 0°	710	2	0	0
C_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös. 1/2 Std. b. 37°	670	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-L.	750	4 012	9 100	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch:

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (b. 1:5 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
M_2	2 » » » 0,5 » » » » » 0°		völlige »
M_3	2 » » » 0,5 » NaCl-Lös. » » » 37°		» »
K_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,5 ccm Typh -Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Kaninchen-Bl. (v. 1:5 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
K_2	2 » » » 0,5 » » » » » 0°		völlige »
K_3	2 » » » 0,5 » NaCl-Lös. » » » 37°		» »

Tabelle IX.

Aktives Hundeserum. Emulsion des Choleravibrio.

A. Baktericider Versuch: In die T-Röhrchen einen Tropfen verdünnter Typhus-, in die C-Röhrchen einen Tropfen verd. Cholera-Bouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	7 Std.	24 Std.
T_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 St. b. 37°	4 500	32 000	sehr viele	sehr viele
T_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 Std. b. 0°	4 680	106	256	ca. 100 000
T_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,9 ccm NaCl-Lös. 1/2 Std. b. 37°	4 300	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,9 ccm NaCl-L.	4 700	30 800	sehr viele	sehr viele
C_1	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 Std. b. 37°	2 100	59 000	sehr viele	∞
C_2	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 Std. b. 0°	2 410	108	6 100	sehr viele
C_3	2 ccm akt. Hunde Ser. u. 0,9 ccm NaCl-Lösung 1/2 Std. b. 37°	2 090	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,9 ccm NaCl-L.	2 630	31 000	—	—

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (verd. 1 : 10 NaCl-Lös.)	keine Auflös.
M_2	2 » » » 0,9 » » » » » 0°		völlige »
M_3	2 » » » 0,9 » NaCl-Lös. » » » 37°		» »
K_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,9 ccm Chol.-Em. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Kaninchen-Bl. (verd. 1 : 10 NaCl-Lös.)	keine Auflös
K_2	2 » » » 0,9 » » » » » 0°		völlige »
K_3	2 » » » 0,9 » NaCl-Lös. » » » 37°		» »

Tabelle X.

Aktives Hundeserum. Milzbrandbacillenemulsion.

A. Baktericider Versuch: Einsaaten wie in Tabelle IX.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse sofort	nach 6 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	3280	48 000	∞
T_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°	3100	159	38 000
T_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. 37°	3070	0	0
T_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung	3290	50 000	∞
C_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	5100	63 900	sehr viele
C_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°	4880	29	0
C_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37°	4810	0	0
C_4	inaktiv. Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung	4900	56 000	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat.
M_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1 : 10 Na Cl Lösung	keine Auflös.
M_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°		vollständ. Aufl.
M_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37°		» »
K_1	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	1 ccm Kaninchenblut (1 : 10 Na Cl-Lösung)	keine Auflös.
K_2	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Milzbr.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°		vollständ. Aufl.
K_3	2 ccm Hunde-Ser. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37°		» »

Tabelle XI.

Aktives Kaninchenserum. Typhusbacillenemulsion.

A. Baktericider Versuch. Einsaat in die C- bez. T-Röhrchen ein Tropfen Cholera- resp. Typhusbacillenbouillonkultur; in die M-Röhrchen ein Tropfen einer gleichmäfsigen Verreibung von einigen Ösen Milzbrandagarkultur in Bouillon.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
C_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	28 800	36 000	sehr viele	∞
C_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°	24 300	175	352	sehr viele
C_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37° . . .	19 800	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	27 500	39 000	sehr viele	∞
T_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	22 500	ca. 100 000	sehr viele	∞
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°	21 000	8 900	ca. 100 000	∞
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37° . . .	19 900	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	24 800	ca. 100 000	sehr viele	∞
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	630	2 300	viele [2])	viele [2])
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°	750	610	viele [2])	viele [2])
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37° . . .	610	1	0	0
M_4 [1])	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	780	2 600	viele [2])	viele [2])

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	0,5 ccm Meerschw.-Bl. (v. 1 : 10 Na Cl-Lösung)	keine Auflösung
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°		verspätete u. nicht ganz vollständ. Lös.
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37° . . .		völlige Lösung
S_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 37°	0,5 ccm Schweineblut (v. 1 : 10 Na Cl-Lösung)	keine Lösung
S_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^3/_4$ Std. bei 0°		nicht ganz vollständige Lösung
S_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung $^3/_4$ Std. bei 37° . . .		völlige Lösung

1) Anmerkung. Das Kaninchenserum wurde 24 Stunden bei 57° gehalten und so auch für Milzbrand inaktiviert.

2) Verflüssigt.

Tabelle XII.

Aktives Kaninchenserum. Choleravibrionen-Emulsion.

A. Bactericider Versuch. Einsaaten in die C-H, resp. T-Röhrchen je ein Tropfen verdünnter Cholera- bezw. Typhusbacillenbouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen:	Zahl der Kolonien aus einer Öse.			
		sofort	nach 3 St.	nach 7 St.	nach 24 St.
C_1	2 ccm akt. Kaninch. Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 37° . . .	2 300	68000	viele	sehr viele
C_2[1])	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 0°	4 200	860	2 600	viele
C_3	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37° . .	2 230	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung	2 680	56000	sehr viele	∞
T_1	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 37°	4 380	19700	ca. 180000	sehr viele
T_2	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 0°	4 390	1 280	1 410	sehr viele
T_3	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37° . .	4 460	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung	4 500	15800	68 000	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen:	Zusatz:	Resultat:
M_1	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 37° . .	0,5 ccm Meerschw. Bl (1:10 Na Cl-Lös.)	keine Lösung
M_2	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.- Em. $^1/_2$ St. bei 0° . .		völlige, aber verspätete Lösung
M_3	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37°		völlige Lösung
K_1	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 37° . .	0,5 ccm sensibilisiertes Rinderblut verd. (1:10 Na Cl-L.)	keine Lösung
K_2	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Chol.-Em. $^1/_2$ St. bei 0° . .		vollst. aber sehr verspätete Lösung
K_3	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,6 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37°		völlige Lösung

1) Anm. In dieses Röhrchen wurden aus Versehen 2 Tropfen verdünnter Cholerabouillonkultur eingesäet.

Tabelle XIII.

Aktives Kaninchenserum. Milzbrandbacillen-Emulsion.

A. Baktericider Versuch. Einsaaten wie in Tabelle XIII.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
C_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 37°	15 600	17 500	45 000	∞
C_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 0°.	15 100	78	650	sehr viele
C_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ Std. bei 37° . . .	13 200	18	0	0
C_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung	18 630	21 000	63 000	∞
T_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 37°	10 500	62 000	sehr viele	∞
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 0°.	13 900	4 080	3 800	ca. 100 000
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ Std. bei 37° . . .	14 100	256	0	0
T_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung	15 300	84 000	sehr viele	∞
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 37°	1 630	3 000	sehr viele	sehr viele
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ Std. bei 0°.	1 830	210	4 000	sehr viele
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ Std. bei 37° . . .	1 700	10	0	0
M_4 [1])	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung	1 980	2 900	sehr viele	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen:	Zusatz:	Resultat:
M_1	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. bei 37° .	0,5 ccm Meerschw. Bl. (1:10 Na Cl-Lös.)	keine Lösung
M_2	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. bei 0°. .		verspätete Lösung aber vollständig
M_3	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. bei 37°		vollständig Lösung
R_1	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. bei 37° .	0,5 ccm sensibilisiertes Rinderblut (verd. 1:10 Na Cl-L.)	keine Lösung
R_2	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Milzbr.-Em. $^1/_2$ St. bei 0°. .		völlige aber verspätete Lösung
R_3	2 ccm Kaninch.-Ser. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung $_1/_2$ bei 37° . .		vollständ. Lösung

1) Für diese Probe wurde das Kaninch.-Ser. 24 Std. bei 57° gehalten.

Ganz übereinstimmend ergibt sich also aus allen diesen Versuchen die völlige Aufhebung der aktiven Eigenschaften dieser Sera gegenüber den gewählten hochempfindlichen Elementen, wenn nur die abgetöteten Bakterien in genügender Menge und hinreichend lange bei **37⁰** einwirkten. Bei **0⁰** dagegen tritt keine, oder nur ganz geringe Absorption des Alexins ein. Wenn trotzdem in manchen Versuchen die baktericide Wirkung der bei 0⁰ gehaltenen Mischungen eine erheblichere Verminderung dar Bakterícidie aufwies, so erklärt sich das aus folgenden Umständen.

Zunächst gelingt es, ohne zu langes Centrifugieren nicht, die toten Bakterien absolut vollständig aus dem Serum zu entfernen. Eine geringe Trübung bleibt fast stets zurück. Da mir aber eine Centrifugiervorrichtung zum Entfernen der Bakterien unter Beibehaltung der niedrigeren Temperatur für diese Versuche vorerst nicht zu Gebote stand, so suchte ich mir durch vorherige, sorgfältige Kühlung der Centrifugengläschen in einer Kältemischung und möglichst kurzes Centrifugieren zu helfen, um eine Erwärmung während des Centrifugierens und damit Absorption des Alexins zu verhindern. Dabei mufste ich allerdings die durch die geringe Menge der zurückgebliebenen Bakterien eintretende Absorption bei der nachträglichen Erwärmung auf 37⁰ im Brutschrank mit in den Kauf nehmen. Dieser Mifsstand machte sich besonders bei den baktericiden Versuchen mit Kaninchenserum geltend, während Rinderserum die günstigsten Versuchsbedingungen bot. Letzteres agglutiniert die Bakterien nämlich schon normalerweise ziemlich stark, weshalb sich dieselben natürlich viel schneller abcentrifugieren lassen.

Bei der kürzeren Dauer der hämolytischen Versuche macht sich das natürlich viel weniger geltend. Hier tritt gegenüber den mit Kochsalzlösung versetzten Kontrollen meist nur eine unbedeutende Verzögerung der Hämolyse in den bei 0⁰ gehaltenen Proben mit Bakterienzusatz ein. Als mir später eine Runnesche Centrifuge, in welcher ich die Proben in einer Kältemischung centrifugieren konnte, zu Gebote stand, habe ich den

in dieser Hinsicht besonders schlecht geratenen Versuch aus Tabelle XIII (Kaninchenserum-Milzbrandemulsion mit Einsaat von Typhus-Bacillen) nachgeprüft, wobei sich nun fast jeder Verlust am baktericiden Vermögen vermeiden liefs.

Tabelle XIV.

Aktives Kaninchenserum. Milzbrandbacillen-Emulsion.

Baktericider Versuch. Einsaat ein Tropfen Typhusbacillenbouillonkultur.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. 1/2 St. bei 37°	17 100	56 000	viele	∞
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Milzbr.-Em. 1/2 St. bei 0°	14 600	27	3	0
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung 1/2 St. bei 37°	16 800	18	0	0
T_4	2 ccm intakt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl Lös.	17 200	47 800	sehr viele	∞

Aber noch ein zweiter Faktor kann bei diesen Versuchen bei 0° störend eingreifen. Wie schon in der Einleitung erwähnt, hatten Ehrlich und Morgenroth gefunden, dafs inaktiviertes normales Serum Körper enthält, welche begünstigend im Sinne der Hämolyse wirken und von diesen Forschern im Sinne der Seitenkettentheorie als Amboceptoren aufgefafst werden. Wechsberg [18]) hat darauf hingewiesen, dafs man auch bei der Baktericidie normaler Sera mit derartigen Körpern zu rechnen hat. Da sich dieselben nun vollkommen analog wie die spezifischen Immunkörper verhalten sollen, so müssen derartige Hilfskörper, wie Buchner sie nennt, auch wie jene bei 0° von dem betreffenden passenden Reaktionskörper gebunden werden; unter diesen Umständen würde also auch ohne Bindung des Alexins eine Verminderung an baktericider Wirkung durch den Kontakt mit Bakterien bei 0° in gewissen Fällen eintreten können. Aus dem Ausfall einzelner Versuche habe ich in der That den Eindruck gewonnen, dafs dies zuweilen der Fall ist. Anderseits aber geht doch aus den mitgeteilten Versuchsprotokollen klar hervor, dafs diese hitzebeständigen Körper der normalen

Sera nicht ohne weiteres mit den spezifischen Immunkörpern auf eine Stufe gestellt werden können. Denn manchmal läfst sich ihr Vorhandensein unter diesen Bedingungen überhaupt nicht nachweisen, weiterhin aber müfste sich doch bei Zusatz einer bestimmten Bakterien-Emulsion auch ein besonders begünstigender Einflufs für diese selbe Art in lebendem Zustand zeigen, da ja durch die toten Bakterien der betreffende, für die Baktericidie notwendige Amboceptor absorbiert würde. Dafür aber haben meine Erfahrungen keine Anhaltspunkte ergeben.

Jedenfalls aber zeigen meine Versuche, dafs der von Baumgarten gegen die Resultate Bails erhobene Einwand, die Abnahme der Baktericidie des Serums erkläre sich durch den günstigen Einflufs der mit den toten Bakterien zugeführten Nährstoffe, hinfällig ist. Schon die gleichzeitige Aufhebung der hämolytischen Aktion beweist dies deutlich. Aber auch für die baktericiden Versuche glaube ich diesen Einwurf als unberechtigt bezeichnen zu können.

Zunächst wurden durch Abcentrifugieren der toten Bakterien doch auch die in ihnen enthaltenen und etwa im Verlaufe des baktericiden Versuchs den eingesäten lebenden Mikroorganismen zu Gute kommenden Nährstoffe beseitigt. Ferner aber müfste sich in den gleichzeitig bei 0° gehaltenen Proben der günstige Einflufs etwaiger ausgelaugter Nährstoffe ebenso gut geltend machen, wie in den bei 37° gehaltenen Proben.

Ausser diesen, systematisch gegen alle drei Sera geprüften Emulsionen von abgetöteten Typhus-, Cholera- und Milzbrandbacillen habe ich noch gegen das eine oder andere dieser Sera Emulsionen von Bacillus prodigiosus, megatherium, lactis aerogenes, proteus, Bact. coli commune und Staphylokokken untersucht. Bei grofser quantitativer Verschiedenheit des Absorptionsvermögens wirkten alle diese Bakterien qualitativ doch völlig analog; bei entsprechender Steigerung der zugesetzten Menge der Emulsion liefs sich stets völlige Aufhebung der baktericiden und hämolytischen Eigenschaften erzielen. Dabei

zeigte sich zwar häufig, das auch von Bail beobachtete Phänomen einer scheinbaren Spezifität der Wirkung der verschiedenen Emulsionen, wie dieselbe aber zu erklären ist, geht aus folgendem Beispiel hervor:

Tabelle XV.

A. Aktives Hundeserum. Staphylokokken-Emulsion.

Einsaat in die St-Röhrcheu ein Tropfen Staphyslococcenbouillonkultur in die T-Röhrchen ein Tropfen Typhusbouillonkultur (natürlich nach Abcentrifugieren der toten Staphylococcen.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
St_1	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,8 ccm Staph.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	2 130	3 840	sehr viele	sehr viele
St_2	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,4 ccm Staph.-Em. u. 0,4 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ St. b. 37°	2 300	3 010	» »	» »
St_3	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,8 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St b. 37° . . .	2 090	850	530	viele
St_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 0,8 ccm Na Cl-Lösung . . . . , .	2 530	3 600	sehr viele	sehr viele
T_1	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,8 Staph.-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	26 000	31 000	» »	» »
T_2	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,4 Staph.-Em. u. 0,4 Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. b. 37° .	23 800	3 800	6 100	viele
T_3	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 0,8 Na Cl-Lös.	22 100	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Hund.-Ser. u. 0,8 Na Cl-Lös.	27 800	32 600	ca. 100 000	sehr viele

B. Aktives Hundeserum. Typhusbacillen-Emulsion.

Einsaat in die St-Röhrchen ein Tropfen Staphyl.-Bouillonkultur, in die T-Röhrchen ein Tropfen verdünnter Typhusbouillonkultur nach Abcentrifugieren der toten Typhusbacillen.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
St_1	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Typh.-Em. $^1/_2$ St.b. 37°	7 180	10 800	sehr viele	sehr viele
St_2	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,3 ccm Typh.-Em. u. 0,2 ccm Na Cl-Lösung $^1/_2$ St. b. 37°	7 130	9 880	» »	» »

Fortsetzung zu Tabelle XVI (Typhusbacillen-Emulsion).

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	7 Std.	24 Std.
St_3	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,1 ccm Typh.-Em. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung ½ St. b. 37°	7 020	11 000	sehr viele	sehr viele
St_4	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung ½ St. b. 37°	6 990	2 600	1 100	» »
St_5	2 ccm inakt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	7 400	9 100	sehr viele	» »
T_1	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Typh.-Em. ½ St. b. 37°	4 310	30 800	» »	» »
T_2	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,3 ccm Typh.-Em. u. 0,2 ccm Na Cl-Lösung ½ St. b. 37°	4 700	8 900	87 000	» »
T_3	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,1 ccm Typh.-Em. u. 0,4 ccm Na Cl-Lösung ½ St. b. 37°	4 480	310	199	viele
T_4	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung ½ St. b. 37°	4 070	19	0	0
T_5	2 ccm inakt. Hunde-Serum u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung	4 650	22 100	viele	sehr viele

Nach dem Versuch mit Staphylokokken-Emulsion könnte es ja scheinen, daſs diese auch eine besonders schützende Eigenschaft für die lebenden Staphylokokken, weniger aber für die Typhusbacillen habe. Ein Blick auf den zweiten Versuch dieser Tabelle lehrt aber, daſs auch der Zusatz abgetöteter Typhusbacillen ebenfalls wieder in erster Linie den Staphylokokken ungehindertes Wachstum ermöglicht, schon in einer Menge, welche die Typhusbacillen selbst vor starker Abtötung nicht zu schützen vermag. Dies Verhalten liegt offenbar begründet in der ungleichen Empfindlichkeit der beiden Bakterienarten gegen das Hundeserum-Alexin. Während die Typhusbacillen durch dasselbe in groſser Zahl vernichtet werden, erfahren die Staphylokokken auch in den nicht mit toten Bacillen vermischten Proben nur eine relativ geringe Verminderung. Ebenso wird bei einer nur teilweisen Bindung des Alexins und damit Abschwächung des baktericiden Vermögens der resistentere Mikroorganismus schon üppig sich vermehren können, während

eine empfindlichere Bakterienart durch den Rest von Alexin je nach der Gröfse der Einsaat noch vollständige oder doch sehr erhebliche Abtötung erleidet. Da mir dieser Punkt durch die trefflichen Untersuchungen Bails genügend geklärt zu sein scheint, so verweise ich im übrigen auf die eingehenden Ausführungen dieses Autors.

Ganz dasselbe gilt nun auch für die Aufhebung der hämolytischen Wirkung des Alexins, wobei zu beachten ist dafs die roten Blutkörperchen im allgemeinen ein empfindlicheres Reagens für die Reste desselben bilden, als auch sehr empfindliche Bakterien. Denn während jede, auch noch so geringe Hämolyse durch den Austritt des Hämoglobins und die Rotfärbung der Flüssigkeit sich unserer Wahrnehmung offenbart, wird die Abtötung einer gewissen Zahl von Bakterien durch die Vermehrung der übrig bleibenden überkompensiert werden und bei der üblichen Technik der Beobachtung sich entziehen können. Daher mufste ich auch, um gleichzeitige Aufhebung beider aktiven Eigenschaften zu erreichen, im allgemeinen gröfsere Quantitäten von toten Bakterien den Serumproben zusetzen, als Bail bei seinen Versuchen, in welchen es sich nur um die Aufhebung der Baktericidie handelte, abgesehen davon, dafs letzterer nur Kaninchenserum, ich dagegen auch die stärker aktiven Sera von Rindern und Hunden verwendete; auch waren meine Cholera- und Typhusbacillen wohl empfindlicher als diejenigen Bails.

Die Richtigkeit dieser Ansicht, dafs bei solchen Absorptionsversuchen die quantitativen Verhältnisse von ausschlaggebender Bedeutung sind, zeigte sich auch sehr deutlich bei einer Nachprüfung der oben erwähnten Angabe Neissers, nach welcher Milzbrandbacillen wohl die ihnen schädliche baktericide Aktion des Kaninchenserums aufheben können, dagegen nicht Ziegen- oder Hammelblutkörperchen vor Auflösung zu schützen vermögen. Wie aus Tabelle XVI hervorgeht, sind Ziegen- und Hammelblut-Erythrocyten gegen aktives Kaninchenserum aufserordentlich empfindlich, so dafs eine Probe desselben, deren Alexingehalt durch Zusatz toter Bakterien oder durch Verdünnung mit Kochsalzlösung stark

herabgesetzt ist, auf sie noch sehr ausgeprägt, globulicid einwirkt, während dieselbe Probe gegen Bakterien, erst recht gegen die nicht besonders empfindlichen Milzbrandbacillen, und Meerschweinblutkörperchen nicht oder nur schwach wirksam ist. Durch eine dieser gröfseren Empfindlichkeit entsprechende Steigerung des Zusatzes abgetöteter Milzbrandbacillen liefse sich aber auch gegen Ziegen- und Hammelblutkörperchen jede hämolytische Wirkung des Kaninchenserums aufheben.

Tabelle XVI.

Aktives Kaninchenserum. Milzbrandbacillen-Emulsion.

A. Baktericider Versuch: Alle Röhrchen wurden nach Zusatz der toten Milzbrandbacillen, bezw. der Kochsalzlösung 1/2 Stunde bei 37° gehalten, darauf die toten Bakterien abcentrifugiert, jetzt wurde in die M Röhrchen 1 Tropfen einer Aufschwemmung von einigen Ösen frischer Milzbrandagarkultur in Bouillon, in die T-Röhrchen 1 Tropfen verdünnter Typhusbouillonkultur eingesät.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
M_1	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 ca. Milzbr.-Em.	1 100	6 000	viele	viele
M_2	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,3 Milzbr.-Em. u. 0,7 Na Cl-Lösung	1 140	4 900	viele	viele
M_3	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,1 Milzbr.-Em. u. 0,9 Na Cl-Lösung	910	420	1 110	viele
M_4	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl-Lösung	1 050	25	1	10
M_5	1 ccm akt. Kan.-Ser. u. 2,0 Na Cl-Lösung	993	34	10	2 000
M_6	0,5 ccm akt. Kan.-Ser. u. 2,5 Na Cl-Lös.	980	2 100	13 700	viele
M_7[1])	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös.	1 170	4 100	viele	viele
T_1	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 Milzbr.-Em.	5 300	29 800	ca. 100 000	viele
T_2	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,3 Milzbr.-Em. u. 0,7 Na Cl.-Lösung	5 100	4 200	12 400	viele
T_3	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,1 Milzbr.-Em. u. 0,9 Na Cl.-Lösung	5 080	160	98	10 900
T_4	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl-Lösung	4 980	12	4	0
T_5	1 ccm akt. Kan.-Ser. u. 2,0 Na Cl-Lösung	5 100	35	6	48
T_6	0,5 ccm akt. Kan.-Ser. u. 2,5 Na Cl-Lösung	5 400	280	130	viele
T_7	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl-Lös.	5 350	23 100	viele	viele

1) Das Serum dieser Probe wurde durch 24stündigen Aufenthalt bei 57° inaktiviert.

Aktives Kaninchen-Serum. Milzbrandemulsion.

B. Hämolytischer Versuch. Alle Röhrchen wurden nach Zusatz der abgetöteten Milzbrandbacillen bezw. der Kochsalzlösung $^1/_2$ St. bei 37° gehalten, dann abcentrifugiert. Darauf wurde den M-Röhrchen $^1/_2$ ccm einer 10proz. Aufschwemmung von gewascheneu Meerschweinchenblutkörperchen, den Z-Röhrchen ebensoviel einer gleichbehandelten Ziegenblutkörperchenaufschwemmung und den H-Röhrchen ganz ebenso Hammelblutkörperchen zugefügt.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Resultat
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	keine Lösung nach 2 Stunden
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,3 ccm Milzbr.-Em. u. 0,7 Na Cl-Lösung	unvollständ. Lös. nach 2 Std.
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,1 ccm Milzbr.-Em. u. 0,9 Na Cl-Lösung	vollständ. Lös. nach 2 Stunden.
M_4	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-Lös.	vollständ. Lös. nach 20 Minuten.
M_5	1,0 ccm Kan.-Ser. u. 2,0 ccm Na Cl-Lös.	vollständ. Lös. nach 2 Stunden.
M_6	0,5 ccm Kan.-Ser. u. 2,5 ccm Na Cl-Lös.	nicht ganz vollst. Lös. nach 2 Std.
Z_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	keine Auflösung nach 2 Std.
Z_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,3 ccm Milzbr.-Em. u. 0,7 Na Cl-Lösung	nach 8 Minuten beginnend; nach 2 Stunden vollständ. Lös.
Z_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,1 ccm Milzbr.-Em. u. 0,9 Na Cl-Lösung	nach 5 Minuten beginnend; nach $^1/_2$ Stunde vollständ. Lös.
Z_4	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-Lös.	nach 3 Minuten vollständ. Lös.
Z_5	1,0 ccm Kan.-Ser. u. 2,0 ccm Na Cl-Lös.	nach 6 Minuten vollständ. Lös.
Z_6	0,5 ccm Kan.-Ser. u. 1,5 ccm Na Cl Lös.	nach 8 Minuten vollständ. Lös.
H_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Milzbr.-Em.	keine Lösung nach 2 Stunden.
H_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,3 ccm Milzbr.-Em. u. 0,7 ccm Na Cl-Lösung	nach 10 Min. beginnend, nach 2 Std. fast vollständ. Lös.
H_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 0,1 ccm Milzbr.-Em. u. 0,9 ccm Na Cl-Lösung	nach 5 Min. beginnend, nach 3 Stunden vollständ. Lös.
H_4	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-Lös.	nach 3 Minuten vollständ. Lös.
H_5	1,0 ccm Kan.-Ser. u. 2,0 ccm Na Cl-Lös.	nach 7 Minuten vollständ. Lös.
H_6	0,5 ccm Kan.-Ser. u. 2,5 ccm Na Cl-Lös.	nach 10 Minuten vollständ. Lös.

Auch ein zweiter ähnlicher Versuch mit der Emulsion eines anderen Milzbrandstammes hatte dasselbe Resultat. Bei Verwendung einer gegen die Schutzstoffe des Kaninchenserums noch unempfindlicheren Milzbrandkultur — ist es doch bekannt, daſs sich die Rassen einer Mikroorganismenart darin sehr verschieden

verhalten können — werden die Differenzen zwischen der zur Aufhebung der baktericiden Aktion auf diese Bacillen hinreichenden Menge der toten Bakterien und der zur Verhinderung der Hämolyse solcher sehr empfindlichen Blutkörperchen notwendigen Quantität natürlich noch viel gröfser ausfallen können als in dem mitgeteilten Versuch; daraus aber eine qualitative Verschiedenheit der die Hämolyse und Bakteriolyse bedingenden Alexine bezw. Komplemente zu folgern, wie Neisser es will, scheint mir unberechtigt.

Auch im Versuch am lebenden Tier läfst sich nun die Aufhebung der Alexinwirkung durch den Kontakt mit abgetöteten Bakterien demonstrieren und zwar auf doppelte Weise.

Das aktive Serum einer Tierart wirkt bei intravenöser oder intraperitonealer Einverleibung auf eine fremde, empfindliche Tierspecies stark giftig, was sich aus der auflösenden Eigenschaft seines Alexins für die roten Blutkörperchen und wohl auch auf die übrigen Zellen des betreffenden Organismus erklärt. Dementsprechend ist durch einhalbstündiges Erhitzen inaktiviertes Serum in gleichen Dosen unschädlich. Es läfst sich nun leicht zeigen, dafs solches aktive Serum durch den Kontakt mit abgetöteten Bakterien auch seine Giftigkeit verliert.

Ich habe diese Versuche nur mit aktivem Rinder- und Hundeserum gegen Meerschweinchen von 200—250 g Gewicht angestellt, da diese beiden Sera schon in relativ geringen Mengen von 3—5 ccm bei intraperitonealer Einverleibung den Tod dieser Tiere herbeiführen, während aktives Kaninchenserum entsprechend seinem geringeren Auflösungsvermögen für Meerschweinchenblutkörperchen auch dem ganzen Organismus derselben gegenüber viel weniger giftig ist.

Die relative Giftigkeit aktiven Rinder-, Kaninchen- und Hundeserums für Meerschweinchen möge zunächst durch Tab. XVII veranschaulicht werden. Durch Kontakt bei 37° mit einer hinreichenden Menge abgetöteter Bakterien wird nun das stark giftige Rinder- und Hundeserum für Meerschweinchen unschädlich, während bei 0° keine Absorption des Alexins eintritt und die Sera ihre Giftigkeit somit behalten.

Tabelle XVII.

Tierversuch. Aktives Rinder-, Hunde- und Kaninchenserum.

Meerschweinchen im Gewicht von 240—250 g.

Nr.							Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	4	ccm	akt. Rind.-Ser.	intraperitoneal	† nach 8 Stunden
2.	›	›	2	›	› ›	›	† › 24 ›
3.	›	›	4	›	inakt. ›	›	bleibt gesund.
4.	›	›	2	›	› ›	›	› ›
5.	›	›	10	›	› ›	›	† nach 4 Tag. unter starker Abmagerg.
6.	›	›	4	›	akt. Hunde-Ser.	›	† nach 10 Stunden.
7.	›	›	2	›	› ›	›	schwerkrank, erholt sich wieder.
8.	›	›	4	›	inakt. ›	›	bleibt gesund.
9.	›	›	2	›	› ›	›	› ›
10.	›	›	10	›	akt. Kaninch.-Ser.	›	krank, erholt sich wieder.

Natürlich dürfen für diese Versuche nur solche Bakterien gewählt werden, welche keine giftigen Substanzen an die Sera abgeben und dadurch schon an sich den Meerschweinchen-Organismus töten können; am geeignetsten erwiesen sich daher Emulsionen des Bacillus anthracis und megatherium.

Tabelle XVIII.

Tierversuch. Aktives Rinder- oder Hundeserum. Milzbrandbacillen-Emulsion. Megatheriumbacillen-Emulsion.

Meerschweinchen im Gewicht von 210—225 g.

Es werden folgende Mischungen hergestellt:

a)	5 ccm	akt. Rind.-Ser.	u. 2 ccm	Milzbr.-Em.	1/2	St. bei	37°
b)	5 ›	› ›	› 2 ›	›	1/2	› ›	0°
c)	5 ›	› ›	› 2 ›	Megath.-Em.	1/2	› ›	37°
d)	5 ›	› ›	› 2 ›	›	1/2	› ›	0°
e)	5 ›	› ›	› 2 ›	NaCl-Lösung	1/2	› ›	37°
f)	5 ›	inakt. ›	› 2 ›	›			
g)	5 ›	akt. Hunde-Ser.	› 2 ›	Milzbr.-Em.	1/2	› ›	37°
h)	5 ›	› ›	› 2 ›	›	1/2	› ›	0°
i)	5 ›	› ›	› 2 ›	NaCl-Lösung	1/2	› ›	37°
k)	5 ›	inakt. ›	› 2 ›	›			

Nach dem Abcentrifugieren der Bacillen erhält das

Nr.				Resultat:
1.	Meerschw.	5 ccm von Mischung	a	lebt.
2.	›	5 › › ›	b	† nach 20 Stunden.
3.	›	5 › › ›	c	lebt.

Nr.						Resultat:
4.	Meerschw.	5	ccm	von	Mischung d	† nach 18 Stunden.
5.	»	5	»	»	» e	† » 10 »
6.	»	5	»	»	» f	lebt.
7.	»	5	»	»	» g	»
8.	»	5	»	»	» h	† nach 20 Stunden.
9.	»	5	»	»	» i	† » 12 »
10.	»	5	»	»	» k	lebt.

Ja, selbst nach intraperitonealer Injektion einer tödlichen Serumdosis kann das Tier noch gerettet werden, wenn man sofort die Einspritzung einer hinreichenden Bakterienmenge nachfolgen und so die Neutralisierung des schädlichen Alexins sich in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens vollziehen läſst.

Tabelle XIX.

Tierversuch. Aktives Rinderserum. Milzbrandbacillen-Emulsion.

Meerschweinchen im Gewicht von 220—240 g.

Nr.		Resultat:
1.	Meerschw. erhält 5 ccm akt. Rind.-Ser. intraperitoneal und gleich darauf 2 ccm Milzbr.-Em. »	krank, aber erholt sich wieder.
2.	Meerschw. erhält 5 ccm akt. Rind.-Ser. intraperitoneal und gleich darauf 2 ccm NaCl-Lös. »	† nach 6 Stunden.
3.	Meerschw. erhält 5 ccm inakt. Rind.-Ser. intraperitoneal und gleich darauf 2 ccm NaCl-Lös. »	bleibt gesund.

Aber auch gegenüber dem Alexin des Meerschweinchens selbst, welchem man intraperitoneal abgetötete Bakterien einverleibt, äuſsern diese ihre absorbierende Wirksamkeit und diese Thatsache erscheint mir darum besonders bedeutungsvoll, weil sie einen Beweis für die ausschlaggebende Rolle des Alexins bei der Vernichtung in den Organismus eingedrungener Infektionserreger liefert.

Meine zahlreichen Versuche in dieser Hinsicht haben ergeben, daſs es gelingt, eine an sich nicht tödliche Dosis von Cholera- oder Typhusbacillen für Meerschweinchen zu einer tödlichen zu machen, wenn man mit ihr gemischt

oder gleich vorher oder nachher eine gewisse Menge Alexin absorbierenden Materials, also hier zunächst von abgetöteten Bakterien in die Bauchhöhle injiziert. Gerade der Peritonealraum bietet für dieses Experiment die geeigneten Bedingungen, indem das auf den Reiz der Infektion hinzu tretende Alexin bei der Peristaltik der Därme auch mit dem Absorptionsmaterial in genügende Berührung kommt und so ähnliche Verhältnisse wie beim baktericiden Versuch in vitro hergestellt werden. Und ebenso wie bei letzterem sich bei Zusatz von toten Bakterien eine Einsaat von Mikroorganismen mehr oder weniger ungehindert vermehren kann, welche ohne denselben vollständig vom Alexin vernichtet werden würde, so beginnen auch in der Bauchhöhle des Meerschweinchens die eingeimpften Cholera- und Typhusbacillen sich unter dem Schutz der injizierten toten Milzbrand- oder Megatherium-Bacillen zu vermehren und führen den Tod des Versuchstieres herbei, während Kontrolltiere, mit der gleichen oder selbst vielfach gröfseren Dosis von Cholera- und Typhusbacillen infiziert, den Eingriff überstehen, weil eben in ihrer Bauchhöhle das Alexin ungehemmt seine Wirksamkeit entfalten konnte.

Tabelle XX.

Tierversuch. Emulsion von Milzbrandbacillen.

Als Infektionsmaterial diente eine 24stündige Agarkultur des Choleravibrio, in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Meerschweinchen im Gewicht von 215 — 225 g.

Nr.											Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2	ccm	Milzbr.-Em.	u.	1,0	ccm	Chol.-Aufschw.		†
2.	»	»	2	»	»	»	0,3	»	»		†
3.	»	»	2	»	»	»	0,1	»	»		†
4.	»	»	2	»	»	»	0,03	»	»		†
5.	»	»	2	»	NaCl-Lös.	»	1,0	»	»		†
6.	»	»	2	»	»	»	0,3	»	»		lebt.
7.	»	»	2	»	»	»	0,1	»	»		»
8.	»	»	2	»	»	»	0,03	»	»		»
9.	»	»	4	»	Milzbr.-Em.						»

Tabelle XXI.

Tierversuch. Emulsion von Milzbrandbacillen.

Als Infektionsmaterial dient eine 24stündige Agarkultur des Typhusbacillus, in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Meerschweinchen im Gewicht von 210—220 g.

Nr.								Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2 ccm	Milzbr.-Em.	u.	1,0 ccm	Typh.-Aufschw.	†
2.	»	»	2 »	»	»	0,3 »	»	†
3.	»	»	2 »	»	»	0,1 »	»	†
4.	»	»	2 »	»	»	0,03 »	»	lebt.
5.	»	»	2 »	Na Cl-Lös.	»	1,0 »	»	†
6.	»	»	2 »	»	»	0,3 »	»	lebt.
7.	»	»	2 »	»	»	0,1 »	»	»
8.	»	»	4 »	Milzbr.-Em.				»

Tabelle XX.

Tierversuch. Emulsion von Bac. Megatherium.

Als Infektionsmaterial dient eine 24stündige Agarkultur des Choleravibrio, in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Meerschweinchen im Gewicht von 215—235 g.

Nr.								Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2 ccm	Megath.-Em.	u.	0,3 ccm	Chol.-Aufschw.	†
2.	»	»	2 »	»	»	0,1 »	»	†
3.	»	»	2 »	»	»	0,03 »	»	†
4.	»	»	2 »	»	»	0,01 »	»	lebt.
5.	»	»	2 »	Na Cl-Lös.	»	1,0 »	»	†
6.	»	»	2 »	»	»	0,3 »	»	lebt.
7.	»	»	2 »	»	»	0,1 »	»	»
8.	»	»	4 »	Megath.-Em.				»

Wie man sieht, gelang es, durch die gleichzeitige Injektion der in Kochsalzlösung aufgeschwemmten abgetöteten Bakterien die mit einer 10—30fach kleineren Dosis von Typhus- und Cholerabacillen infizierten Meerschweinchen zu töten, als bei gleichzeitiger Injektion derselben Menge Kochsalzlösung allein. Natürlich überzeugte ich mich jedesmal, daſs der Tod durch Vermehrung der betreffenden eingeimpften Infektionserreger nicht durch andere zufällige Momente herbeigeführt wurde. Daſs die Milzbrandbacillen- resp. Megatherium-Emulsion den Meerschweinchen in der angewandten Menge unschädlich war, zeigen die mit der doppelten Menge injizierten Kontrolltiere.

Aufhebung der Alexinwirkung durch lebende Bakterien und Hefezellen.

In den bisher mitgeteilten Versuchen waren die Bakterienemulsionen durch längeres Erhitzen auf Siedetemperatur getötet worden. Wenden wir uns jetzt zur Beantwortung der Frage: Wie beeinflussen lebende Bakterien die Alexinwirkung normaler Sera?

Es liegt in den natürlichen Verhältnissen, dafs sich exakte bakericide Versuche nach Zusatz lebender Bakterien-Emulsionen nicht mehr anstellen lassen; ebensowenig wie es gelingt, die toten Bakterien ganz vollständig aus dem Serum durch Centrifugieren zu entfernen, ist dies bei Verwendung lebender der Fall und die in dem Serum zurückbleibenden werden sich im baktericiden Versuch bei Verwendung derselben Mikroorganismenart durch unkontrollierbare Erhöhung der Einsaat, beim Versuch mit anderen Bakterien aber als Verunreinigungen störend geltend machen. Ein Entfernen derselben durch Filtration mit bakteriendichten Filtern istnicht angängig, weil, wie schon Bail hervorhebt, auch der Alexingehalt eines Serums beim Passieren solcher Filter eine Verminderung erleidet. Nach einigen wenig befriedigenden Versuchen, auf diesem Wege zum Ziele zu gelangen, habe ich mich auf hämolytische Versuche beschränkt. Es ergibt sich aus ihnen, dafs es auch mit lebenden Bakterien gelingt, die hämolytische Aktion eines Serums aufzuheben, und zwar scheint bei Verwendung einer geeigneten Bakterienart zwischen lebenden Bakterien und solchen, die durch ½stündiges Erhitzen auf 60° oder durch gleichlangen Aufenthalt bei Siedetemperatur getötet wurden, kein erheblicher Unterschied zu bestehen.

(Siehe Tabelle XXIII auf S. 40.)

Das Absorptionsvermögen der Choleravibrionen erlitt also selbst durch einstündiges Kochen keine irgendwie bedeutende Einbufse, geschweige denn, wie v. Dungern meint, völlige Vernichtung.

Tabelle XXIII.

Aktives Rinderserum. Choleravibrionen-Emulsion, davon Portion A lebend, Portion B durch 1stündigen Aufenthalt bei 60°, Portion C durch gleichlanges Erhitzen auf 100° abgetötet.

Serie I. Alle Röhrchen 3/4 Std. bei 37° gehalten, dann die Bacillen abcentrifugiert.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
1.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Chl.-Em. A	1 ccm Meerschw. Bl. (1:10 Na Cl-L.)	keine Auflösung
2.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Chol.-Em. A u. 0,5 ccm Na Cl.		unvollständ. Aufl.
3.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,2 ccm Chol.-Em. A u. 0,8 ccm Na Cl-L.		n. 1/4 Std. völl. Aufl.
4.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Chol.-Em. B . , ...	dito	keine Auflösung
5.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Chol.-Em. B u. 0,5 ccm Na Cl-L		unvollständ. Aufl.
6.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,2 ccm Chol.-Em. B u. 0,8 ccm Na Cl-L.		n. 20 Min. völl. Aufl.
7.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 1,0 ccm Chol.-Em. C	dito	keine Auflösung
8.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Chol.-Em. C u. 0,5 ccm Na Cl-L.		unvollständ. Aufl.
9.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,2 ccm Chol.-Em. C u. 0,8 ccm Na Cl-L.		n. 20 Min. völl. Lös.
10.	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung		n. 3 Min. völl. Lös.

Serie II. Alle Röhrchen mit demselben Inhalt wie in Serie I, aber vor Abcentrifugieren der Bacillen 3/4 Std. bei 0° gehalten; Zusatz zu allen Röhrchen 1 ccm Meerschweinchenblut (verd. 1:10 Na Cl-Lösung). Resultat: In allen Röhrchen vollständige Auflösung, in denen mit gröſserem Zusatz von Cholera-Vibrionen (1,0 ccm und 0,5 ccm) aber verspätet.

Anderseits fanden sich aber auch oft erhebliche Differenzen zwischen lebenden und toten Bakterien bezüglich der Beeinträchtigung der Hämolyse. Und zwar zeigten die mit lebenden Emulsionen versetzten Serumproben bald geringere, bald stärkere Auflösung der zugefügten Erythrocyten, als die zur Kontrolle mit gleichen Mengen abgetöteter Bakterien derselben Art versetzten Proben. Ich habe diese Unregelmäſsigkeiten nicht

weiter verfolgt, mir scheinen dieselben aber leicht erklärlich. Zunächst können die lebenden Bakterien, welche doch in relativ sehr grofser Menge dem Serum zugesetzt werden, während der Zeit ihres Kontaktes die Alexine wie andere Eiweifsstoffe des Serums zu ihrer Ernährung verwenden, und so, auch ohne dafs es zu einer eigentlichen Absorption käme, vernichten. Ferner aber können nun auch die Bakterien ihrerseits Substanzen bilden, welche auflösend auf rote Blutkörperchen einwirken. Mit solchen Hämolysinen bakteriellen Ursprungs haben uns ja die Arbeiten einer Reihe von Forschern, wie Madsen, Kraus, Neisser und Wechsberg, Levy und Lubenau bekannt gemacht. Da nun auch die normalen Sera wieder Antikörper gegen diese Art von Hämolysinen in wechselnder Stärke enthalten, so ergeben sich eine Menge von möglichen Kombinationen, welche den Ausfall des hämolytischen Versuches modifizieren können. Bei Verwendung der durch längeres Erhitzen abgetöteten Emulsionen fallen diese Schwierigkeiten fort, da solche bakterielle Hämolysine, wie das von Neisser und Wechsberg genauer studierte Staphylotoxin durch höhere Temperaturen zerstört werden.

Ganz in derselben Weise wie die eigentlichen Bakterien wirken nun auch die Hefezellen, wie schon v. Dungern die Aufhebung der hämolytischen Aktion durch dieselben beobachtete, sowohl im lebenden wie im toten Zustand absorbierend auf die Alexine der normalen Sera ein. Neben Aufschwemmungen von auf Agar gezürhteten Hefereinkulturen fand ich für meine Versuche besonders geeignet die nach dem Verfahren von E. Buchner und Rapp[1]) durch Aceton abgetöteten Hefezellen, ein feines Pulver, welches als 10proz. Emulsion sehr kräftige Absorptionswirkungen für die Alexine der untersuchten Sera zeigte. Sowohl diese Emulsion, wie die Aufschwemmung von lebenden, selbstgezüchteten Hefezellen wurden dann für die folgenden 2 Versuche durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 100° sterilisiert.

---

1) Herrn Oberapotheker Dr. Rapp spreche ich auch an dieser Stelle für die gütige Besorgung des Materials meinen herzlichen Dank aus.

Tabelle XXIV.

Aktives Kaninchenserum. Emulsion von Hefezellen, in Kolle-Schalen gezüchtet, durch 1stündiges Erhitzen auf 100° abgetötet.

A. Baktericider Versuch. Nach Abcentrifugieren der Hefezellen wird in die T-Röhrchen ein Tropfen verdünnter Typhusbouillonkultur, in die C-Röhrchen ein Tropfen verdünnter Cholerabouillonkultur eingesät.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse sofort	nach 4 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Hefe-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	4 070	21 600	sehr viele	∞
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Hefe-Em. $^1/_2$ St. bei 0°	4 130	1 100	385	viele
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ St. b. 37°	3 820	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-L.	3 990	28 300	viele	sehr viele
C_1	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Hefe-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	1 880	15 600	viele	∞
C_2	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Hefe-Em. $^1/_2$ St. b. 0°	1 900	210	41	10 200
C_3	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-L. $^1/_2$ St. b. 37°	1 868	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-L.	1 890	22 000	viele	viele

Hämolytischer Versuch.

	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Hefe-Em. $^1/_2$ St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1:10 Na Cl-Lös.)	keine Lösung
M_2	2 » » » 1,0 » » » » » 0°		völlige »
M_3	2 » » » 1,0 Na Cl-Lösung » » » 37°		» »

(Folgt Tabelle XXV auf S. 43.)

Ganz entsprechend dieser Aufhebung der baktericiden und hämolytischen Eigenschaften brachte auch der Kontakt mit Hefezellen die Giftwirkung von Hunde- und Rinderserum auf Meerschweinchen zum Verschwinden.

Tabelle XXV.

Aktives Hundeserum. 10% Aufschwemmung von Hefezellenpulver, 1 Std. bei 100° gehalten.

A. Baktericider Versuch. Einsaaten wie in Tabelle XIV.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	7 Std.	24 St.
T_1	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. b. 37°	8300	16 350	92 000	viele
T_2	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. b. 0°	8710	152	93	ca. 100 000
T_3	2 ccm akt. Hunde-Serum u. 1 ccm Na Cl-Lösung 1/2 Std. b. 37°	8600	12	3	2530
T_4	2 ccm inakt. Hunde-Serum u. 1 ccm Na Cl-Lösung	9050	14 100	22 000	ca. 100 000
C_1	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 Std. b. 37°	4100	12 000	viele	viele
C_2	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 Std. b. 0°	4080	93	4	0
C_3	2 ccm akt. Hunde-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös. 1/2 Std. b. 37°	3900	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Hunde-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	4210	19 000	viele	viele

B. Hämolytischer Versuch.

	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1:10 Na Cl-Lös.)	keine Auflösung
M_2	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. b. 0°		völlige »
M_3	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Na Cl-L. 1/2 St. b. 37°		» »
K_1	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. bei 37°	1 ccm Kan.-Bl. (1 : 10 Na Cl-Lös.)	keine Auflösung
K_2	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Hefe-Aufschw. 1/2 St. b. 0°		völlige »
K_3	2 ccm Hunde-Serum u. 1 ccm Na Cl-L. 1/2 St. b. 37°		» »

Aufhebung der Alexinwirkung durch Kontakt mit Organzellen.

Das Bindungsvermögen für die Alexine beschränkt sich aber nicht nur auf die Zellen der kleinsten Lebewesen, auch durch den Kontakt mit Zellen tierischen Ursprungs kann das Alexin gebunden werden; wie in der Einleitung schon hervorgehoben, machte v. Dungern zuerst die interessante Beobachtung, daſs durch die Emulsionen von fein verriebenen Organzellen die hämolytische Kraft sowohl fremden, wie des demselben Organismus entstammenden Serums aufgehoben werden kann. Die völlige Analogie, welche die bisherigen Versuche mit Bakterien und Hefezellen in der Beeinträchtigung sowohl der baktericiden wie der hämolytischen Funktion der Serumalexine ergeben hatten, legte es natürlich nahe, auch solche Aufschwemmungen von fein verteilten Organzellen in beiden Hinsichten zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden die steril entnommenen Organe mit Scheere und Messer möglichst vollständig zerkleinert und durch ein Metallsieb mit feinen Poren gerieben. Der so erhaltene Brei wurde dann mit physiologischer Kochsalzlösung mehrmals gewaschen und schlieſslich soweit verdünnt, daſs $^1/_2$ gr des ursprünglichen Organs in 1 ccm der Emulsion enthalten war. Diese Emulsionen wurden nun teils frisch, teils in gekochtem Zustand mit dem betreffenden Serum in Kontakt gebracht. Bei den frischen Emulsionen machte sich häufig der Übelstand geltend, daſs es trotz aller Vorsicht nicht gelang, dieselben vor Verunreinigung mit Luftkeimen zu bewahren, was bei den vielen Manipulationen, die mit dem Material vorgenommen werden muſsten, nur zu erklärlich ist. Bei den baktericiden Versuchen machte sich das natürlich durch Überwucherung der eingesäten Keime unliebsam bemerkbar; doch verfüge ich über eine Reihe auch in dieser Hinsicht einwandsfreier Protokolle.

(Folgt Tabelle XXVI und XXVII auf S. 45 und 46.)

Aus diesen Versuchen wie aus ähnlichen, mit Nieren- oder Milzzellen von Rind, Kaninchen und Meerschweinchen angestellten Versuchen geht deutlich hervor, daſs diese Organzellen-

Emulsionen imstande sind, sowohl das eigene, wie fremdes Blutserum seiner baktericiden und hämolytischen Funktion zu berauben, ebenso daſs diese Fähigkeit durch halbstündiges Erhitzen auf Siedetemperatur nicht verloren geht; auch irgendwie erhebliche Unterschiede zwischen den frischen und erhitzten Zellen habe ich nicht beobachtet.

Tabelle XXVI.

Aktives Kaninchenserum. Kaninchenleberzellenemulsion Portion A frisch, Portion B $^1/_2$ Std. gekocht.

A. Bactericider Versuch. Einsaat in alle Röhrchen ein Tropfen Typhusbouillonkultur (verdünnt).

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 4 Std.	7 Std.	24 Std.
T_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. $^1/_2$ Std. bei 37°	5 290	20 800	viele	viele
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. bei 0°	4 890	16	0	0
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. bei 37°	4 990	26 000	viele	sehr viele
T_4	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. bei 0°	5 080	3	0	0
T_5	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ Std. bei 37°	4 700	0	0	0
T_6	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	5 310	19 900	sehr viele	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. bei 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1 : 10 Na-Cl-Lösung)	keine Auflösung
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. bei 0°		völlige Auflösung
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. bei 37°		keine Auflösung
M_4	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. bei 0°		völlige Auflösung
M_5	2 ccm Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ Std. bei 37°		völlige Auflösung

Tabelle XXVII.

Aktives Rinderserum. Kaninchenleberzellen-Emulsion, Portion A frisch, Portion B $^1/_2$ Std. gekocht.

A. Baktericider Versuch. Einsaat in alle Röhrchen 1 Tropfen verdünnter Typhusbouillonkultur

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	nach 7 St.	nach 24 St.
T_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 37°	2 400	7 800	53 000	viele
T_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 0°	2 350	1 200	10	3 100
T_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 37°	2 420	9 100	ca. 100 000	viele
T_4	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 0°	2 540	53	2	0
T_5	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Std. b. 37°	2 200	0	0	0
T_6	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 1 ccm NaCl-Lös.	2 490	11 000	viele	viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1:10 NaCl-Lösung)	keine Lösg.
M_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige »
M_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 37°		keine »
M_4	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige »
M_5	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm NaCl-Lös. $^1/_2$ St. b. 37°		» »
K_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 37°	1 ccm Kaninchen-Bl. (1:10 NaCl-Lösung)	keine Auflös.
K_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. A $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige »
K_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 37°		keine »
K_4	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm Kan.-Zell.-Em. B $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige »
K_5	2 ccm Rind.-Ser. u. 1 ccm NaCl-Lös. $^1/_2$ St. b. 37°		» »

Dagegen stimmen meine Erfahrungen in der Hinsicht völlig mit denen v. Dungerns überein, dafs zur Aufhebung der aktiven Eigenschaften eines Serums die Zellen verschiedener Organe

und verschiedener Tierspecies in sehr wechselndem Mafse befähigt sind. Überhaupt verlaufen die Absorptionsversuche mit diesem Material nicht so regelmäfsig wie die mit toten Bakterien, ohne dafs sich vorerst bestimmte Ursachen für diese Unregelmäfsigkeiten angeben liefsen; aber soweit meine Beobachtungen reichen, betrafen sie stets hämolytische und baktericide Funktion der Sera — natürlich unter Berücksichtigung der verschiedenen Empfindlichkeit von Blutkörperchen und Bakterien — gleichmäfsig; liefs sich mit einer Zellenart keine Aufhebung der Hämolyse erreichen, so war sie auch für Bakterien von geringer Schutzwirkung und umgekehrt. Auf die besonders interessanten Beziehungen zwischen Absorptionsvermögen und Empfindlichkeit der Erythrocyten werden wir weiter unten einzugehen haben.

Geradeso wie mit abgetöteten Bakterien, läfst sich nun auch im Tierversuch die Aufhebung der Alexinwirkung durch Zellenemulsionen demonstrieren. Sowohl verliert aktives Hunde- und Rinderserum nach Kontakt mit einer genügenden Menge von Organzellen seine Giftigkeit für Meerschweinchen, also auch kann bei gleichzeitiger Injektion von Zellaufschwemmungen und einer an sich nicht tödlichen Dosis Cholera- oder Typhusbacillen der Tod des Versuchstieres herbeigeführt werden. Die zu letzteren Tierversuchen bestimmten Emulsionen wurden aus der Leber eines frisch getöteten Meerschweinchens in der angegebenen Weise bereitet. Um das in dem Zellenbrei enthaltene Serum oder sonstige lösliche Stoffe zu beseitigen, wurden die Zellen zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann mit den angegebenen Dosen Cholera- bezw. Typhusbacillen gemischt, den Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt, während die Kontrolltiere die entsprechenden Bacillenmengen in Kochsalzlösung suspendiert erhielten. Aus meinen zahlreichen übereinstimmenden Versuchen in dieser Richtung sei hier je einer mit Typhus- und Cholera-Bacillen mitgeteilt. Auch hier wurde jedesmal durch Kultur und mikroskopische Untersuchung eine Mischinfektion oder andere Todesursache ausgeschlossen.

Tabelle XXVIII.

Tierversuch. Meerschweinchenleberzellen-Emulsion frisch.

A. Als Infektionsmaterial dient eine 24stündige Choleraagarkultur in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Meerschweinchen im Gewicht von 210—235 g.

Nr.											Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	3	ccm	Zell.-Em.	u.	1,0	ccm	Chol.-Aufschw.	intraperit.	†
2.	›	›	3	›	›	›	0,3	›	›	›	†
3.	›	›	3	›	›	›	0,1	›	›	›	†
4.	›	›	3	›	›	›	0,03	›	›	›	†
5.	›	›	3	›	NaCl-Lös.	›	1,0	›	›	›	†
6.	›	›	3	›	›	›	0,3	›	›	›	lebt.
7.	›	›	3	›	›	›	0,1	›	›	›	›
8.	›	›	3	›	›	›	0,03	›	›	›	›
9.	›	›	5	›	Zell.-Em. intraperitoneal						›

B. Als Infektionsmaterial dient ein virulenterer Stamm von Choleravibrionen; eine 24stündige Agarkultur in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Nr.											Resultat:
10.	Meerschw.	erhält	3	ccm	Zell.-Em.	u.	0,1	ccm	Chol.-Em.	intraperitoneal	†
11.	›	›	3	›	›	›	0,025	›	›	›	†
12.	›	›	3	›	›	›	0,005	›	›	›	†
13.	›	›	3	›	NaCl-Lös.	›	0,2	›	›	›	†
14.	›	›	3	›	›	›	0,05	›	›	›	†
15.	›	›	3	›	›	›	0,025	›	›	›	lebt.
16.	›	›	3	›	›	›	0,005	›	›	›	›
17.	›	›	5	›	Zell.-Em. intraperitoneal						›

Tabelle XXIX.

Tierversuch. Meerschweinchenleberzellen-Emulsion frisch.

Als Infektionsmaterial dient ein wenig virulenter Typhusbacillenstamm, 1 Agarkultur aufgeschwemmt in 20 ccm Bouillon.

Meerschweinchen im Gewicht von 200—220 g.

Nr.											Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	3	ccm	Zell.-Em.	u.	0,3	ccm	Typh.-Aufschw.	intraper.	†
2.	›	›	3	›	›	›	0,1	›	›	›	†
3.	›	›	3	›	›	›	0,03	›	›	›	lebt.
4.	›	›	3	›	NaCl-Lös.	›	1,0	›	›	›	›
5.	›	›	3	›	›	›	0,3	›	›	›	›
6.	›	›	3	›	›	›	0,1	›	›	›	›
7.	›	›	3	›	Zell.-Em. intraperitoneal						›

Die also unter völliger Übereinstimmung von Reagensglasversuch und Tierexperiment bewiesene Thatsache, dafs zertrümmertes Zellmaterial auch desselben Organismus im stande ist, die bacteriolytische Thätigkeit der natürlichen Schutzstoffe zu beeinträchtigen, bezw. aufzuheben, scheint mir geeignet zu sein, unsere Kenntnis der Pathogenese von Infektionskrankheiten in mancher Hinsicht zu vertiefen, besonders von der Bedeutung des Traumas für dieselben uns präcisere Vorstellungen zu verschaffen. Die begünstigende Wirkung einer Verletzung, besonders wenn damit eine ausgedehntere Zertrümmerung oder Zerquetschung von Weichteilen und Organen verbunden war, auf die Ansiedelung und Wucherung von Infektionserregern ist uns ja durch zahllose klinische Beobachtungen genügend bekannt, ebenso wie oft nekrotische Gewebspartien als Invasionspforte für pathogene Mikroorganismen dienen können. Auch die Erfahrungen der experimentellen Pathologie stehen damit durchaus im Einklang. Ich erinnere nur an die Versuche zahlreicher Forscher, welche zeigten, dafs in die Blutbahn gebrachte Staphylokokken sich mit Vorliebe an solchen Stellen, z. B. subcutan frakturierten Knochen festzusetzen pflegen. Man erklärte sich diesen Zusammenhang meist mit dem Schlagwort vom locus minoris resistentiae, der durch das Trauma gesetzt sei. Durch die mitgeteilten Versuche aber erhalten wir für diese Beziehung zwischen Infektion und Trauma doch einen neuen Gesichtspunkt.

Dafs die pathogenen Mikroorganismen sich an den Stellen, wo absterbendes oder totes Zellenmaterial vorhanden ist, mit Vorliebe festsetzen, erklärt sich eben vorzugsweise aus der Absorptionswirkung solchen Materials auf das Alexin; der Zelldetritus bildet gewissermafsen einen Schutzwall, hinter welchem die Krankheitserreger, vor dem Feinde gedeckt, sich vermehren und ihre deletären Eigenschaften entwickeln können. So wird es uns auch erklärlich, wie bei lokalen Infektionsprozessen, trotzdem das Blut des erkrankten Individuums reichliche Mengen von kräftig baktericiden Schutzstoffen enthält, wie uns ein Versuch in vitro zeigt, nichtsdestoweniger der lokale Erkrankungsprozefs stetig um sich greifen kann. Dafs dabei auch andere Momente,

wie die gestörte Circulation, welche eben auch wieder den Zutritt von alexinhaltigem Blut erschwert und die günstigen Ernährungsbedingungen in dem abgestorbenen Gewebe gleichfalls eine wichtige Rolle spielen, soll natürlich nicht geleugnet werden.

Auch die Bedeutung, welche die Toxine mancher Krankheitserreger für ihr Fortkommen im lebenden Organismus haben können, wird uns in diesem Sinne leicht verständlich. Sie bilden gewissermafsen die Angriffswaffen, welche auf das umgebende Gewebe nekrotisierend einwirken und so wieder einen neuen Schutzwall für die Mikroorganismen gegen die andringenden Alexine errichten helfen. Auf Grund dieser Überlegung versteht man auch leicht, wie eine rein antitoxische Behandlung, z. B. die der Diphtherie mit dem Behringschen Serum, auch auf den lokalen Krankheitsprozefs so günstig einwirken kann; durch das Antitoxin wird eben die Angriffswaffe der Bakterien machtlos und diese selbst erliegen dann leichter den natürlichen Schutzstoffen des Organismus. Auch eine, den Chirurgen geläufige Thatsache möchte ich in diesem Sinne verwerten. Von den in den ersten Zeiten der neueren Chirurgie in so ausgiebiger Weise verwendeten Antisepticis ist man mehr und mehr zurückgekommen, in der richtigen Erwägung, dafs durch dieselben die Körperzellen ebenso leicht geschädigt werden, wie die feindlichen Bakterien. Selbst bei perforierenden Darmverletzungen, bei denen es zum Austritt von stets bakterienreichem Darminhalt gekommen ist, pflegen die Chirurgen sich jetzt mit einer möglichst schonenden und sorgfältigen Reinigung des Peritoneums unter Vermeidung von antiseptischen Ausspülungen zu begnügen. Auch wenn auf diese Weise Mikroorganismen auf demselben zurückbleiben, so erweisen sich doch die natürlichen Schutzstoffe des Körpers glücklicherweise häufig kräftig genug, um dieser Schädlinge Herr zu werden, wenn nur nicht durch eine Schädigung des Peritonealepithels und damit entstehenden Absorptionsbestreben für das eigene Alexin ihrer Thätigkeit ein Hemmnis in den Weg gelegt wird, wie das in meinen Tierversuchen durch die gleichzeitige Injektion der Leberzellen-Emulsion der Fall war. Es liegt mir natürlich die Annahme fern, nun in der Absorbierbarkeit

des Alexins durch tote oder geschädigte Zellen eine Erklärung für alle diesbezüglichen Erscheinungen der erwähnten Krankheitsprozesse gewonnen zu haben; aufser dem Alexin stehen dem Organismus ja sicher noch andere Schutzvorrichtungen im Kampfe gegen Krankheitserreger zur Verfügung, in erster Linie die Leukocyten, und aufserdem ist der Verlauf einer Infektion ein so komplicierter und von so vielen Faktoren abhängiger Vorgang, dafs man ihn nie aus einer Ursache wird erklären können. Ich glaube aber, dafs diese Eigenschaft der Schutzstoffe des Blutes manche scheinbar widersprechenden klinischen Beobachtungen mit der Alexintheorie auszusöhnen geeignet ist.

Mit Unrecht aber erblickt meines Erachtens Levaditi ([19]) in dieser Absorptionsfähigkeit der Organzellen-Emulsionen einen Beweis gegen die Möglichkeit der Existenz von freiem Alexin im zirkulierenden Blute überhaupt. Handelt es sich doch bei v. Dungerns wie bei meinen Versuchen, um Zellen, welche, aus ihren natürlichen Lebensbedingungen und Ernährung gerissen und auch mechanisch lädiert, nun in einem fremden Medium suspendiert wurden, also vielleicht gröfstenteils schon abgestorben, jedenfalls aber schwer geschädigt waren. Dafs solche Zellen sich auch dem Alexin gegenüber anders verhalten wie die unter physiologischen Verhältnissen befindlichen Zellen der lebenden Organe, ist doch unschwer anzunehmen.

Beeinflussung der Alexinwirkung durch unlösliche Eiweifskörper.

Die mitgeteilten Beobachtungen über die Aufhebung der aktiven Serumeigenschaften durch Bakterien und Organzellen liefsen es aussichtsvoll erscheinen, auch nicht organisierte, unlösliche Eiweifskörper hinsichtlich ihrer Einwirkung auf die Alexine zu untersuchen. Eingehend habe ich in dieser Absicht das Verhalten von Aleuronat (Hundhausen) geprüft, welches auf die Empfehlung Buchners hin zur Erzeugung von aseptischen Eiterungen in der experimentellen Pathologie allgemeine Verwendung gefunden hat. Um etwaige lösliche Verunreinigungen desselben zu beseitigen, wurde dasselbe nach sehr gründlicher Sterilisierung (an drei aufeinanderfolgenden Tagen

je eine Stunde im Dampftopf) mehrmals mit Kochsalzlösung gewaschen und als feine, meist 10proz. Suspension verwendet. Eine derartige Aufschwemmung bindet das Alexin der verschiedenen Sera begierig und hebt bei genügendem Zusatz alle aktiven Wirkungen desselben vollständig auf.

Tabelle XXX.

Aktives Rinderserum. 10 proz. Aleuronat-Emulsion.

A. Baktericider Versuch. Einsaat wie in Tabelle XXIV.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus 1 Öse			
		sofort	3 Std.	7 Std.	24 Std.
T_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Stunde b. 37° . .	4300	38 500	sehr viele	sehr viele
T_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Stunde b. 0° . . .	4050	8	0	6
T_3	2 ccm Rind. Ser. u. 2 ccm Na Cl-L. $^1/_2$ Stunde b. 37°	4280	2	0	0
T_4	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 2 ccm Na Cl-Lösung	4250	22 800	sehr viele	sehr viele
C_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Stunde bei 37° . .	612	2 500	19 600	sehr viele
C_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur-. Em. $^1/_2$ Stunde bei 0° . .	590	—	0	0
C_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Na-Cl-Lösung $^1/_2$ Stunde bei 37°.	585	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 2 ccm Na Cl-Lösung	672	1 380	12 800	viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Std. b. 37°	1 ccm Meerschw.-Bl. (1:10 Na-Cl-Lösung)	keine Aufl.
M_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige Aufl.
M_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ Std. b. 37°		völlige Aufl.
K_1	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Std. b. 37°	1 ccm Kaninch.-Bl. (1:10 Na-Cl-Lösung)	keine Aufl.
K_2	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Aleur.-Em. $^1/_2$ Std. b. 0°		völlige Aufl.
K_3	2 ccm Rind.-Ser. u. 2 ccm Na Cl-Lös. $^1/_2$ Std. b. 37°		völlige Aufl.

Tabelle XXXI.

Aktives Kaninchenserum. 10 proz. Aleuronat-Emulsion.

A. Baktericider Versuch. Einsaat wie in Tabelle XXIV.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse sofort	nach 4 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm Kan.-Ser. + 1,0 ccm Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 37°	5340	13 680	88 700	viele
T_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 0°	5280	8	1	0
T_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl Lös. 1/2 Std. b. 37°	4990	0	0	0
T_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1 ccm Na Cl-Lösung	5625	39 800	sehr viele	sehr viele
C_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 37°	7570	8 100	22 900	viele
C_2	2 ccm Kan.-Ser u. 1,0 ccm Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 0°	8720	36	8	0
C_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 ccm Na Cl-Lös. 1/2 Std. b. 37°	6080	0	0	0
C_4	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl-Lösung	7900	ca. 50 000	sehr viele	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zusatz	Resultat
M_1	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 37°	1 ccm Meer-schw.-Bl. (1:10 NaCl-L.)	keine Auflös.
M_2	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 Aleur.-Em. 1/2 Std. b. 0°		völlige »
M_3	2 ccm Kan.-Ser. u. 1,0 Na Cl-Lös. 1/2 Std. b. 37°		völlige »

Das gleiche Resultat hatten die entsprechenden Tierversuche. Sowohl Rinder- und Hundeserum wurde durch den Kontakt mit Aleuronat-Emulsion für Meerschweinchen entgiftet, als auch nicht tödtlichen Dosen von Cholera- und Typhusbacillen durch die gleichzeitige Injektion von Aleuronat zu üppiger Vermehrung und damit zu tödtlicher Wirkung in der Bauchhöhle von Meerschweinchen verholfen. Für beide Beobachtungen seien auf meinen Protokollen folgende Beispiele angeführt:

Tabelle XXXII.

Tierversuch. Aktives Rinderserum. 10 proz. Aleuronat-Emulsion.

Meerschweinchen im Gewicht von 210—230 g.

Es werden folgende Mischungen hergestellt:

a) 5 ccm	akt.	Rind.-Ser.	u. 2,0 ccm	Aleur.-Em.	1/2	St.	bei	37°
b) 5 »	»	»	» 2,0 »	»	1/2	»	»	0°
c) 5 »	»	»	» 2,0 »	NaCl-Lös.	1/2	»	»	37°
d) 5 »	inakt.	»	» 2 »	»				

Nach dem Abcentrifugieren des Aleuronates erhält das

Nr.						Resultat:
1.	Meerschw.	5 ccm	Mischung	a	intraperitoneal	lebt.
2.	»	5 »	»	b	»	† nach 20 Stunden.
3.	»	5 »	»	c	»	† » 14 »
4.	»	5 »	»	d	»	lebt.

Tabelle XXXIII.

Tierversuch. 10 proz. Aleuronat-Emulsion.

Als Infektionsmaterial dient eine 24stündige Agarkultur von Choleravibrionen aufgeschwemmt in 30 ccm Bouillon.

Meerschweinchen im Gewicht von 210—235 gr.

Nr.								Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2 ccm	Aleur.-Em.	u. 1,0 ccm	Chol.-Aufschw.	intrap.	†
2.	»	»	2 »	»	» 0,3 »	»	»	†
3.	»	»	2 »	»	» 0,1 »	»	»	†
4.	»	»	2 »	»	» 0,03 »	»	»	lebt.
5.	»	»	4 »	»	» 0,03 »	»	»	†
6.	»	»	2 »	NaCl-Lös.	» 1,0 »	»	»	†
7.	»	»	2 »	»	» 0,3 »	»	»	lebt.
8.	»	»	2 »	»	» 0,1 »	»	»	»
9.	»	»	4 »	»	» 0,3 »	»	»	»
10.	»	»	4 »	Aleuronat.-Em. intraperitoneal				»

Tabelle XXXIV.

Tierversuch. ca. 20 proz. Aleuronat-Emulsion.

Als Infektionsmaterial dient eine 24stündige Agarkultur des Choleravibrio in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Meerschweinchen im Gewicht von 230—240 g.

Nr.								Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2 ccm	Aleur.-Em.	u. 1,0 ccm	Chol.-Aufschw.	intrap.	†
2.	»	»	2 »	»	» 0,3 »	»	»	†
3.	»	»	2 »	»	» 0,1 »	»	»	†
4.	»	»	2 »	»	» 0,03 »	»	»	lebt.
5.	»	»	2 »	NaCl-Lös.	» 1,0 »	»	»	†
6.	»	»	2 »	»	» 0,3 »	»	»	lebt.
7.	»	»	2 »	»	» 0,1 »	»	»	»
8.	»	»	2 »	»	» 0.03 »	»	»	»
9.	»	»	4 »	Aleuronat-Emulsion intraperitoneal				»

Dafs die Aleuronatmengen an sich für die Meerschweinchen nicht tödtlich waren, zeigen die Kontrolltiere am Schlusse jeden Versuches. Natürlich darf man aber die Aleuronatmengen nicht beliebig steigern, sonst würden sie schon an und für sich den kleinen Tieren verderblich. Nun könnte man aber trotzdem noch gegen diese Versuche einwenden, dafs sowohl die Injektion der 2 ccm Aleuronat-Emulsion wie die an sich nicht tödtliche Menge der Choleravibrionen jede für sich allein zwar nicht den Tod des Versuchstieres bedingen könnte, dafs aber durch die Summierung beider Schädlichkeiten doch der ungünstige Ausgang herbeigeführt würde, der Absorption des Alexins also keine entscheidende Rolle dabei zukomme. Schon aus diesem Grunde schienen mir noch Kontrollversuche notwendig und da dieselben zugleich meines Erachtens den sicheren Beweis für die Thätigkeit des Alexins bei der Bekämpfung von Infektionserregern liefern, welche bekanntlich von der Metchnikoff'schen Schule noch immer nicht anerkannt wird, so verdienen dieselben unser Interesse. Schon oben ist hervorgehoben worden, dafs zur vollständigen Absorption des Alexins einer bestimmten Serummenge auch eine bestimmte Quantität von toten Bakterien notwendig ist, das Bindungsvermögen derselben für das Alexin ist also nicht unbegrenzt. Nun hatte v. Dungern bei seinen Versuchen über die Aufhebung der Hämolyse durch Organzellen festgestellt, dafs solche Zellen, welche sich in einem Serum mit dem Alexin oder Komplement desselben beladen haben, nun nicht mehr fähig sind, sowohl demselben wie auch einem anderen Serum weiter noch Alexin zu entziehen. Ich konnte diese Thatsache sowohl hinsichtlich der Hämolyse bestätigen wie bezüglich der Baktericidie beweisen, und zwar gilt dies auch für die Emulsionen von toten Bakterien und Aleuronat. Als Beispiel diene folgender Versuch mit abgetöteten Typhusbacillen gegen Hunde- und Kaninchenserum.

Tabelle XXXV.

Aktives Hunde- und Kaninchenserum. Emulsion von abgetöteten Typhusbacillen.

A. Baktericider Versuch.

1. a) 0,5 ccm Typh.-Em. wird 1/2 St. bei 37° mit 2 ccm Hunde-Ser. in Kontakt gehalten, dann abcentrifugiert, und

b) wieder in 2 ccm akt. Hunde-Ser. 1/2 St. bei 37° gehalten, dann wieder abcentrifugiert und

c) nochmals in 2 ccm akt. Hunde-Ser. 1/2 St. bei 37° gehalten, schliefslich abcentrifugiert und die isolierten Bacillen in 0,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt; Portion H_1.

2. Ganz in gleicher Weise wird 0,5 ccm Typh.-Em. 3 mal mit je 2 ccm akt. Hunde-Ser. je 1/2 St. bei 37° Kontakt gebracht, und schliefslich in 0,5 ccm NaCl-Lösung suspendiert. Portion H_2.

Die ad 1a und 2a abcentrifugierten Serummengen liefsen zugefügte Meerschweinchenblutkörperchen unverändert; in den ad 1b und 2b abcentrifugierten Proben trat unvollständige Auflösung, in dem ad 1c und 2c gewonnenen Serum trat vollständige Lösung derselben ein.

Ebenso werden je 0,5 ccm Typh.-Em. 3 mal mit je 2 ccm Kaninch.-Ser. in Kontakt gebracht, und geben schliefslich, in je 0,5 ccm NaCl-Lösung suspendiert, die Portionen K_1 und K_2.

Die hierbei abcentrifugierten Kaninchenserumproben verhalten sich gegen Meerschweinchenblutkörperchen ähnlich wie das ad 1 bezw. 2a, b. c abcentrifugierte Hundeserum.

Mit diesen, mit Hundeserumalexin beladenen Typhusbacillen, Portion H_1 und H_2, und den mit Kaninchenserumalexin beladenen Portionen K_1 und K_2 wird nun folgender baktericider Versuch angestellt. Einsaat in alle Röhrchen 1 Tropfen verdünnter Typhusbacillenbouillonkultur.

Alle Röhrchen wurden 1/2 Std. bei 37° gehalten

Bezeichnung	Inhalt der Röhrchen	Zahl d. Kolonien aus einer Öse		
		sofort	nach 6 Std.	nach 24 Std.
T_1	2 ccm akt. Hund.-Ser. u. Portion H_1	8 970	1	33
T_2	2 ccm akt. Hund.-Ser. u. Portion K_1	9 280	16	314
T_3	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. Portion H_2	8 500	3	0
T_4	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. Portion K_2	9 160	24	158
T_5	2 ccm akt. Hund.-Ser. u. 0,5 ccm Typh.-Em.	9 080	ca. 100 000	sehr viele
T_6	2 ccm akt. Hund.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lös.	8 990	0	0
T_7	2 ccm inakt. Hund.-Ser u. 0,5 ccm Na Cl-Lös.	9 000	ca. 100 000	sehr viele
T_8	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,5 Typh.-Em.	9 210	ca. 100 000	sehr viele
T_9	2 ccm akt. Kaninch.-Ser. u. 0,5 Na Cl-Lös.	8 470	8	0
T_{10}	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,5 Na Cl-Lösung	9 900	viele	sehr viele

B. Hämolytischer Versuch.

Ganz entsprechend dem Resultat des baktericiden Versuches ergibt sich, dafs Typhusbacillen, welche 3 mal mit je 2 ccm Hunde- resp. Kaninchenserum in Kontakt gewesen waren, auch die Fähigkeit, die Auflösung von Meerschweinchenerythrocyten zu verhindern, verloren hatten und zwar auch hier wechselseitig, so dafs die mit Hundeserumalexin beladenen Bacillen sowohl in Hundeserum wie in Kaninchenserum machtlos waren wie umgekehrt.

Ein gleiches Resultat hatten Versuche mit Milzbrandbacillen und Aleuronatemulsionen in Rinderserum und Kaninchenserum. Nur dafs das absorbierende Material sich in dem stark aktiven Rinderserum schneller mit Alexin sättigte als in dem schwächeren Kaninchenserum.

Diese Thatsache nun, dafs mit irgend einem Alexin beladenes Aleuronat kein einem anderen Organismus eigentümliches Alexin mehr zu binden vermag, benutzte ich zur Kontrolle der oben geschilderten Tierversuche. Wenn wirklich der deletäre Einflufs des Zusatzes von Aleuronat-Emulsion zu einer an sich nicht tödtlichen Dosis von Choleravibrionen durch die Fähigkeit des Aleuronats, das Alexin des Meerschweinchens zu binden, bedingt war, so durfte Aleuronat, welches vorher mit einem anderen Alexin gesättigt wurde, diese den Meerschweinchen so verhängnisvolle Wirksamkeit nicht mehr besitzen. Das ist nun in der That der Fall, wie folgende Versuchsreihen beweisen.

Tabelle XXXVI.

Tierversuch. ca. 20 proz. Aleuronat-Emulsion.

Es werden je 4 Portionen von 2 ccm Aleur.-Em. mit je 10 ccm akt. Rinderserum 3 mal je $^1/_2$ St. bei 37° gehalten, das zuletzt abcentrifugierte Rind.-Serum ergibt prompte Auflösung von zugesetztem Meerschweinchenblut; das abcentrifugierte Aleuronat wird mit je 20 ccm NaCl-Lösung gewaschen und wieder mit NaCl-Lösung zur ursprünglichen Konzentration aufgeschwemmt; es bildet so die gesättigte Aleuronat-Emulsion.

Als Infektionsmaterial dient eine Choleraagarkultur in 40 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Nr.					Resultat:
1.	Meerschw. erhält	2 ccm gesätt. Aleur.-Em. u.	1,0	ccm Chol.-Aufschw.	†
2.	› ›	2 › › › ›	0,3	› ›	† erst n. 36 St.
3.	› ›	2 › › › ›	0,1	› ›	lebt.
4.	› ›	2 › › › ›	0,03	› ›	›

Nr.										Resultat:
5.	Meerschw.	erhält	2	ccm	gewöhnl.	Aleur.-Em.	u.	1,0	ccm Chol.-Aufschw.	†
6.	»	»	2	»	»	»	»	0,3	» »	†
7.	»	»	2	»	»	»	»	0,1	» »	†
8.	»	»	2	»	»	»	»	0,03	» »	†
9.	»	»	2	»	Na Cl-Lösung		»	1,0	» »	†
10.	»	»	2	»	»		»	0,3	» »	†
11.	»	»	2	»	»		»	0,1	» »	lebt.
12.	»	»	2	»	»		»	0,03	» »	»

Tabelle XXXVII.

Tierversuch. ca. 20 proz. Aleuronat-Emulsion.

Es werden je 3 Portionen von 2 ccm Aleuronatemulsion mit Rinderserumalexin gesättigt, mit NaCl-Lösung gewaschen, und in NaCl-Lösung suspendiert.

Als Infektionsmaterial dient eine Cholera-Agarkultur in 20 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Nr.										Resultat:
1.	Meerschw.	erhält	2	ccm	gesätt.	Aleur.-Em.	u.	0,3	Chol.-Em.	lebt.
2.	»	»	2	»	»	»	»	0,1	»	»
3.	»	»	2	»	»	»	»	0,03	»	»
4.	»	»	2	»	gewöhnl.	»	»	0,3	»	†
5.	»	»	2	»	»	»	»	0,1	»	†
6.	»	»	2	»	»	»	»	0,03	»	†
7.	»	»	2	»	Na Cl-Lösung	»	»	0,3	»	†
8.	»	»	2	»	»	»	»	0,1	»	lebt.
9.	»	»	2	»	»	»	»	0,03	»	»

Während so die gewöhnliche Aleuronat-Emulsion im Einklang mit den früheren Versuchen die Wiederstandsfähigkeit der Meerschweinchen gegen Choleravibrionen erheblich herabsetzt, erhöht die gleichzeitige Injektion mit Alexin gesättigtigtem Material dieselbe bedeutend, wie ein Vergleich mit den mit gleichviel Kochsalzlösung injizierten Tieren ergiebt. Auch das ist uns leicht verständlich. Schon Kochsalzlösung, noch viel mehr aber andere Substanzen, welche einen Reiz auf das Peritoneum ausüben, und so einen erhöhten Zutritt von alexinhaltigen Körpersäften und Leukocyten bedingen, wirken im allgemeinen günstig auf den Verlauf von Infektionen in der Bauchhöhe ein, wie besonders die sorgfältigen Versuche von Issäeff (20) zeigen. Nun wissen wir aber, vom Aleuronat,

dafs es ganz besonders geeignet ist, einen derartigen Reiz für die serösen Häute zu liefern, wie die Entstehung der Exsudate auf Pleura und Peritoneum ja deutlich beweist. Wird nun durch vorherige Sättigung des Aleuronats mit Alexin verhindert, dafs es diesen, die Widerstandsfähigkeit des Organismus erhöhenden günstigen Einflufs durch die schädliche Alexinabsorption wieder aufhebt, und, wie wir gesehen haben, sogar überkompensiert, so resultiert also nach der Injektion von gesättigtem Aleuronat eine erhebliche Erhöhung der Resistenz.

Zugleich aber bringen diese Versuche den meines Erachtens strikten Beweis für die ausschlaggebende Bedeutung des Alexins bei der Bekämpfung derartiger Infektionserreger im Organismus. Besonders Wassermann[21]) hat diese Thätigkeit des Alexins in geistreicher Weise experimentell zu begründen versucht; er behandelte Kaninchen mit Meerschweinchenserum und erzielte dadurch die Bildung von Anti-Meerschweinchenalexin, welches im stande war, die hämolytische und baktericide Wirkung vom aktiven Meerschweinchenserum zu neutralisieren. Injizierte er nun einem Meerschweinchen eine nicht zu kleine Menge von diesem Antiserum, einem anderen die gleiche Menge gewöhnlichen inaktiven Kaninchenserums, und nun beiden die gleiche Dosis Typhusbacillen, so starb nur dasjenige Tier, welches das Antiserum erhalten hatte, während das mit normalem Kaninchenserum behandelte die Typhusbacillen in seinem Peritoneum vernichtete. Den Grund für dieses verschiedene Verhalten erblickt Wassermann in dem durch das Antiserum beim ersten Tier bedingten Unwirksamwerden des Meerschweinchenalexins, welchem das zweite Tier seine Rettung verdankte.

So einleuchtend diese Erklärung Wassermanns auch ist, man kann doch den Einwänden, welche Besredka[22]), ein Schüler Metchnikoffs, gegen dieselbe erhoben hat, nicht ihre Berechtigung absprechen. Ein solches, durch Injektion fremden Serums erzeugtes Antiserum enthält aufser dem Antialexin noch eine Reihe anderer Antikörper. Besredka zeigte nun, dafs darunter auch ein die Thätigkeit der

Leukocyten lähmendes Agens sich befindet, wie er aus Versuchen mit fein verteiltem Karmin, welches er teils mit normalem Kaninchenserum, teils mit Antiserum zusammen Meerschweinchen in die Bauchhöhle injizierte, folgert: im ersteren Falle fand sich nach einer gewissen Zeit fast alles Karmin in den Phagocyten, während im anderen Falle das Karmin von den weifsen Blutzellen nicht aufgenommen wurde. Ganz in gleicher Weise verhindere das Antiserum durch Lähmung der Phagocyten auch, dafs die mit ihm zusammen injizierten Typhusbacillen vernichtet würden, und so erfolge der Tod des Tieres. Wenn es mir auch wahrscheinlicher ist, dafs diese Wirkung des Antiserums gröfstenteils durch die Neutralisation des Alexins und erst in zweiter Linie durch Lähmung der Phagocytose bedingt ist, so mufs doch zugegeben werden, dafs sich die Frage auf diesem Wege nicht entscheiden läfst, da wir eben beide Substanzen, wenn sie überhaupt verschieden sind, nicht aus dem Serum zu isolieren vermögen. Auch meinen an erster Stelle mitgeteilten Tierversuchen gegenüber würde man ja vom Standpunkt der Phagocytentheorie aus den Einwand erheben können, dafs der Einflufs, den die gleichzeitige Injektion von Bakterien, Organzellen und Aleuronat auf den Ausgang der Infektion hat, nicht so sehr der Absorption des Alexins, als vielmehr einer Inanspruchnahme der Phagocyten durch diese Substanzen zuzuschreiben sei; man könnte sich ja vorstellen, dafs die hinzutretenden weifsen Blutkörperchen durch das Auffressen dieser Elemente so beschäftigt würden, dafs sie sich um die gleichzeitig injizierten lebenden Bacillen nicht mehr bekümmern könnten und letztere sich also ungehindert vermehrten. Nun geht aber aus den Tierversuchen mit Alexin gesättigtem Aleuronat in Übereinstimmung mit den Versuchen in vitro einwandsfrei hervor, dafs es thatsächlich nur die Absorption des Alexins ist, vermöge welcher das gewöhnliche zur Bindung des Alexins noch befähigte Aleuronat einen so ungünstigen Einflufs auf die Widerstandskraft des Meerschweinchenorganismus ausübt; verhindert man diese Absorption durch vorheriges Sättigen des Aleuronats

mit anderem Alexin, so übt die Injektion desselben im Gegenteil einen günstigen Einfluſs auf die Resistenz des Peritoneums gegen die eingedrungenen Bakterien aus. Damit soll natürlich den Phagocyten nicht ihre Mitwirkung an der Vernichtung der in den Körper eingedrungenen Mikroorganismen abgesprochen werden, auch brauchen sich ja in der Beziehung die verschiedenen pathogenen Keime durchaus nicht alle gleichmäſsig zu verhalten, aber im Kampfe gegen derartige Infektionen des Peritoneums nehmen die Alexine doch die erste Stelle ein.

Auſser dem Aleuronat habe ich noch einige andere unlösliche Eiweiſsstoffe auf ihr Absorptionsvermögen für die Alexine untersucht. Mehr oder weniger wirksam war ein nicht näher bestimmtes Caseinpräparat unserer Sammlung und das reine Clutencasein (Grübler), unwirksam dagegen aus Rinder- oder Kaninchenserum durch Ansäuren und Kochen gefälltes Eiweiſs, sowohl im gleichen wie im fremden Serum.

Über die Art der Einwirkung dieser Substanzen auf die Alexine.

In den bisherigen Ausführungen, wie im Titel dieser Abhandlung ist das Unwirksamwerden der labilen Schutzstoffe des Blutes nach Kontakt mit den untersuchten Substanzen schlechthin als durch Absorption oder Bindung derselben bedingt bezeichnet worden. Es bleibt mir aber noch übrig, diese Auffassung des Vorganges zu rechtfertigen. Werfen wir zunächst einen Blick auf die Ansichten früherer Autoren, soweit sie eine Erklärung der beobachteten Erscheinungen versucht haben.

Kruse schreibt den Bakterien besondere Angriffsstoffe — Lysine — zu, welche die den Organismus schützenden Alexine neutralisieren. Die belgischen Forscher Denys und Kaisin führen die Verminderung der mikrobiciden Serumeigenschaften nach intravenöser Injektion von toten und lebenden Bakterien und bei Kontakt in vitro ebenfalls auf die neutralisierende Einwirkung der Bakterien-Produkte auf die natürlichen Schutzstoffe zurück. Auch Schneider ist geneigt, in erster Linie die Zersetzungsprodukte der Bakterien für die Beeinflussung der Serum-

alexine verantwortlich zu machen. Die eingehendsten Erwägungen stellt Bail in einem eigenen Abschnitt seiner schon mehrfach citierten, trefflichen Arbeit an. Nachdem er gezeigt hat, dafs nach Abcentrifugieren der mit dem Serum gemischten toten Mikroorganismen die keimvernichtende Kraft desselben sich nicht wieder herstellt, weist er zunächst die Ansicht zurück, als ob es wie etwa bei der durch Hitze eintretenden Inaktivierung zu einer Zerstörung des Alexins unter dem Einflufs der Bakterien käme; am wahrscheinlichsten ist ihm, dafs bei dem Kontakt von Alexin und Bakterien eine Bindung der beiderseitigen Aktivitäten eintritt und diese Verbindung unwirksam ist. Jedenfalls konnte er eine enzymartige Wirkung der toten Bakterien nicht nachweisen.

v. Dungerns Erklärung für die von ihm gefundene Beeinträchtigung der hämolytischen Aktion normaler Sera durch Organzellen, Hefezellen und Bakterien fufst ganz auf der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Darnach beruht ihre Eigenschaft, das Serum seines Alexins (Komplements) zu berauben, auf dem Vorhandensein von komplementophilen Gruppen (Seitenketten), welche, wie die Amboceptoren der Immunsera die Komplemente an die betreffenden Zellen verankern. Da hiernach die Bindung des Komplements mit Hilfe labiler organischer Komplexe erfolgt, so findet es v. Dungern auch natürlich, wenn durch Erhitzen auf diese Temperatur diese Eigenschaft verloren geht, wie er nach seiner Beobachtung mit Milzbrandbacillen annimmt, irrtümlicherweise, wie durch meine umfassenden Versuche bewiesen sein dürfte.

In ihren scharfsinnigen Untersuchungen fanden Bordet und Gengou, dafs die mit einem spezifischen Immunkörper sensibilisierten lebenden Bacillen und Erythrocyten die Fähigkeit erlangen, alles Alexin eines Serums auf sich zu fixieren, wofür sie den Ausdruck Absorption gebrauchen. Ich glaube, diese Bezeichnung der französischen Autoren auch für die von mir studierten Vorgänge beibehalten zu müssen.

Wenn wir bedenken, dafs auch unlösliche Eiweifskörper, ja die zertrümmerten Zellen des gleichen Orga-

nismus die Alexinwirkung aufheben, so werden wir bei der vollständigen Gleichartigkeit des Vorganges auch für die Erklärung des von Bakterienemulsionen ausgeübten Einflusses von der Annahme irgend eines besonderen, von den Bakterien gelieferten Giftes oder Enzyms absehen müssen. Damit soll natürlich nicht ausgeschlossen sein, daſs gewisse Bakterienarten unter Umständen auch lösliche Stoffe produzieren können, welche die Alexinwirkung zu beeinträchtigen vermögen. Im Gegenteil: die Versuche von Schneider machen es nicht unwahrscheinlich, daſs in älteren Bouillonkulturen derartige Substanzen sich bilden. Aber in den Emulsionen in Kochsalzlösung von frischen 24 stündigen Agar-Kulturen habe ich solche nicht nachweisen können.

Zweifellos lassen sich die Bedingungen der Aufhebung der Alexinwirkung, wie wir sie nach Kontakt des Serums mit Bakterien, Hefezellen, Organzellen und unlöslichen Eiweiſsstoffen und im Tierversuch beobachtet haben, am besten mit einer Auffassung des Phänomens als Bindung, Absorption des Alexins an den Reaktionskörpern erklären. Nun ist aber nach heutigem Sprachgebrauch der Ausdruck »Absorption« zweideutig: man begreift darunter sowohl chemische Bildung, wie nur physikalische Anlagerung. Es fragt sich nun, ob wir es bei der Absorption des Alexins mit einem chemischen oder physikalischen Vorgang zu thun haben.

Auf den ersten Blick scheint letztere Auffassung manches für sich zu haben; handelt es sich doch bei diesen Emulsionen um fein verteilte Substanzen, welche etwa durch Flächenanziehung die Alexine sich anlagern und niederschlagen können. Daſs die Alexine gegen eine solche Flächenanziehung nicht völlig unempfindlich sind, zeigt ja die Thatsache, daſs frisches Blutserum beim Passieren eines bakteriendichten Filters einen Teil seiner Aktivität einbüſsen kann (Bail, Ehrlich). Trotzdem scheint mir in unserem Falle das Verschwinden der aktiven Eigenschaften in einem physikalischen Vorgang keine genügende Erklärung zu finden. Dagegen spricht zunächst der Umstand, daſs gerade nach Zusatz solcher Substanzen,

welche nach unseren sonstigen Erfahrungen in erster Linie zu einer physikalischen Absorption befähigt sind, die Serum-Alexine keine, oder nur ganz geringe Beeinflussung erkennen lassen.

Nachdem Bail schon Ultramarinpulver wirkungslos gefunden hatte, habe ich noch feinverteilte Tierkohle, Bolus, Karmin in ca. 10 proz. Aufschwemmungen untersucht. Bei allen zeigte sich nach einstündigem Kontakt mit Rinder- und Kaninchenserum keine oder nur sehr unbedeutende Abnahme der baktericiden oder hämolytischen Aktion, die sich in keiner Weise mit der Wirkung einer gleichen Menge ebenso konzentrierter Aleuronat- oder Hefen-Emulsion vergleichen liefs. Auch die entscheidende Rolle, welche, wie wir gesehen haben, die Temperatur bei der Absorption der Alexine spielt, scheint mir mit einer physikalischen Auffassung des Vorganges kaum vereinbar. Eben diese Thatsache führt uns gerade dazu, in der Absorption einen durch chemische Bindung von Alexin und Reaktionskörper bedingten Vorgang zu sehen. Denn auch das Inkrafttreten des Alexins, also die Baktericidie und besonders die Hämolyse, für welche wir doch wohl jedenfalls eine chemische Einwirkung annehmen müssen, sehen wir von der gleichen Bedingung im selben Sinne abhängig.

Die vollständige Analogie zwischen Wirksamwerden und Absorption des Alexins zeigt sich nun besonders deutlich, wenn wir als Reaktionskörper rote Blutkörperchen benutzen, weshalb die diesbezüglichen Versuche an dieser Stelle mitgeteilt seien. Das Resultat ist eindeutig: Nur solche rote Blutkörperchen entziehen dem Serum sein Alexin, welche von demselben angegriffen werden, während solche Erythrocyten, welche gegen das betreffende Alexin unempfindlich sind, dasselbe auch nicht beeinflussen.

Siehe Tabelle XXXVIII auf S. 65 und 66.)

Nur in den Röhrchen, in welchen die vom Kaninchenalexin angreifbaren Hammelblutkörperchen gelöst und so das Alexin verbraucht wurde, konnten sich die Typhusbacillen üppig ver-

mehren und die Meerschweinchen-Blutkörperchen intakt bleiben. In allen anderen Proben aber, in welchen entweder die Lösung der Blutkörperchen durch Kälte verhindert wurde, oder die Erythrocyten von Natur aus der Alexinwirkung des betreffenden Serums unzugänglich waren, wie die Hammelblutkörperchen in Rinderserum und die Rinderblutkörperchen in Rinder- und Kaninchenserum, trat auch keine Verminderung des Alexingehaltes ein.

Tabelle XXXVIII.

Aktives Rinder- und Kaninchenserum. Rinder- und Hammelblutkörperchen 2mal mit NaCl-Lösung gewaschen und als konzentrierte Aufschwemmung in Kochsalzlösung verwendet.

A. Bakterizider Versuch: Einsaat in alle Röhrchen ein Tropfen verdünnter Typhusbouillonkultur, nach Abcentrifugieren der Blutkörperchen, bezw. der Stromata.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Zahl der Kolonien aus einer Öse			
		sofort	nach 3 Std.	7 Std.	24 Std.
T_1[1])	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . .	1910	3800	viele	sehr viele
T_2	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 0° . . .	2080	56	2	15
T_3	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Rinderbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . . .	1990	3	0	0
T_4	2 ccm akt. Kan. Ser. u. 0,5 ccm Rinderbl.-Körp. 1/2 Std. bei 0° . . .	1890	8	1	0
T_5	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-Lösung 1/2 Std. bei 37°	1770	13	0	0
T_6	2 ccm inakt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-Lösung	1950	4590	viele	sehr viele
T_7	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . .	1930	4	0	0
T_8	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Rinderblut-Körp. 1/2 Std. bei 37° . .	1900	0	0	0
T_9	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-Lösung	1890	3	0	0
T_{10}	2 ccm inakt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm NaCl-Lösung	2010	4100	ca. 100 000	viele

1) NB. In T_1 war das Serum durch das gelöste Hämoglobin der Hammelblutkörperchen auch nach dem Centrifugieren stark rot gefärbt, in allen anderen dagegen farblos.

B. Hämolytischer Versuch: Zusatz zu allen Röhrchen 0,5 ccm Meerschweinblut (verd. 1 : 10 Na Cl-Lösung) nach dem Abcentrifugieren.

Nr.	Inhalt der Röhrchen	Resultat
M_1[1])	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . .	Meerschweinblut-Körperchen bleiben ungelöst
M_2	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 0° . . .	Meerschweinblut-Körperchen vollständig gelöst
M_3	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Rinderbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . . .	» »
M_4	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Rinderbl.-Körp. 1/2 Std. bei 0° . . .	» »
M_5	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Hammelbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . . .	» »
M_6	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Rinderbl.-Körp. 1/2 Std. bei 37° . . .	» »
M_7	2 ccm akt. Rind.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung 1/2 Std. bei 37°	» »
M_8	2 ccm akt. Kan.-Ser. u. 0,5 ccm Na Cl-Lösung 1/2 Std. bei 37°	» »

Freilich sind derartige Versuche nur in dieser negativen Beziehung einwandsfrei. Das Wachstum der Typhusbacillen dagegen in den gelöstes Hämoglobin enthaltenden Proben kann zum Teil wenigstens durch die aus den Blutkörperchen freigewordenen Eiweifsstoffe bedingt sein, ebenso ist die Beurteilung des hämolytischen Versuches in den stark rot gefärbten Proben gestört, insofern eine teilweise Lösung der zugesetzten Meerschweinblutkörperchen nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Nun ergibt aber auch der Tierversuch ganz übereinstimmend, dafs nur in den Proben das aktive Rinderserum seine Giftigkeit für Meerschweinchen verliert, in welcher Lösung der Erythrocyten erfolgte. Tritt keine Auflösung ein, hat somit entweder das Protoplasma der betreffenden Erythrocyten keine chemische Verwandtschaft zum Alexin (oder kann dieses wegen der niederen Temperatur nicht eingreifen), so erfolgt eben auch keine Absorption, und die Giftigkeit des Serums bleibt unverändert.

1) NB. In M_1 war das Serum durch das gelöste Hämoglobin der Hammelblutkörperchen auch nach dem Centrifugieren stark rot gefärbt, in allen anderen dagegen farblos.

Tabelle XXXIX.

Tierversuch. Aktives Rinder-Serum.

Kaninchen-, Meerschweinchen-, Hammel- und Rinderbluterythrocyten 2 mal mit Kochsalzlösung gewaschen und mit derselben schliefslich auf die ursprüngliche Blutkonzentration gebracht.

Meerschweinchen im Gewicht von 225—250 g.

Es werden folgende Mischungen hergestellt:

a)	5 ccm	akt. Rind.-Ser.	u. 2 ccm	Meerschw.-Bl.-Körp.	1/2 St.	bei 37°
b)	5 ›	› ›	› 2 ›	› › ›	1/2 ›	› 0°
c)	5 ›	› ›	› 2 ›	Kaninch.-Bl.-Körp.	1/2 ›	› 37°
d)	5 ›	› ›	› 2 ›	› › ›	1/2 ›	› 0°
e)	5 ›	› ›	› 2 ›	Hammelbl.-Körp.	1/2 ›	› 37°
f)	5 ›	› ›	› 2 ›	Rinderbl.-Körp.	1/2 ›	› 37°
g)	5 ›	› ›	› 2 ›	Na Cl-Lösung	1/2 ›	› 37°
h)	5 ›	inakt. ›	› 2 ›	›		

In Röhrchen a und c war das Serum durch das Hämoglobin der Meerschw.- bezw. Kaninch.-Bl.-Körp. stark rot gefärbt, in den übrigen farblos. Nach Abcentrifugieren der Blutkörperchen bezw. der Stromata erhält:

Nr.						Resultat:
1.	Meerschw.	5 ccm	Mischung	a	intraperitoneal	bleibt gesund.
2.	›	5 ›	›	b	›	† n. 24 Stunden.
3.	›	5 ›	›	c	›	bleibt gesund.
4.	›	5 ›	›	d	›	† n. 24 Stunden.
5.	›	5 ›	›	e	›	† › 10 ›
6.	›	5 ›	›	f	›	† › 10 ›
7.	›	5 ›	›	g	›	† › 8 ›
8.	›	5 ›	›	h	›	bleibt gesund.

Auch bei dem Kontakt mit lebenden Bacillen finden sich ähnliche Analogien. So fand ich, dafs ein aus frischem Rinderserum, als zufällige Verunreinigung isoliertes saprophytisches Bakterium, welches vom Rinderserumalexin nicht abgetötet wurde, als lebende Emulsion zu Rinderserum zugesetzt, dessen hämolytische Wirksamkeit fast nicht, jedenfalls viel schwächer als dieselbe Emulsion in abgetötetem Zustande beeinträchtigte. Damit übereinstimmend hatte Hundeserum, in welchem die für Hundealexin wenig oder gar nicht empfindlichen Milzbrandbacillen sich üppig vermehrt hatten, auch seine Globulicidie behalten. Anderseits aber konnte wieder durch reichlichen Zusatz von lebenden Milzbrandbacillen doch auch die Aktivität von Hundeserum aufgehoben werden. Jedenfalls liegen bei lebenden

Bakterien, wie schon oben hervorgehoben, kompliziertere Verhältnisse vor wie bei den roten Blutkörperchen, wie das bei der grofsen Verschiedenheit beider Zellenarten nicht anders zu erwarten ist. Die mit geringer Vitalität begabten Erythrocyten können dem verderblichen Einflufs des Alexins keinen Widerstand entgegensetzen, wenn dasselbe bei der chemischen Konstitution ihres Protoplasmas überhaupt einen Angriffspunkt findet, für sie ist Absorption des Alexins gleichbedeutend mit Auflösung; die selbständige vermehrungsfähige Bakterienzelle dagegen wird je nach ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das betreffende Alexin auch den schädigenden Einflufs etwa gebundenen Alexins noch überwinden können.

Werden aber die lebenden Bakterien durch einen spezifischen Immunkörper sensibilisiert, also für die Alexinwirkung in hohem Grade empfindlich gemacht, so verlaufen auch bei ihnen Absorption und Abtötung völlig parallel, wie die ausgezeichneten und vielfach variierten Versuche von Bordet und Gengou bewiesen haben.

Sieht man nun mit den Anhängern der Seitenkettentheorie auch für das Zustandekommen der hämo- und bakteriolytischen Wirkungen der normalen Sera das Zusammenwirken eines Zwischenkörpers (Amboceptors) und des Komplements als unbedingt notwendig an, so wird man konsequenterweise auch für die Absorption des Komplements durch Bakterien oder Organzellen bezw. Eiweifspartikelchen die Beihilfe passender Zwischenkörper nicht entbehren können, die entweder in dem Serum als freie Amboceptoren oder an dem Reaktionskörper als fixe Seitenketten vorhanden sein können, wie denn auch v. Dungern, ein Schüler Ehrlichs, den Vorgang in dieser Weise zu erklären sucht.

Im Anschlufs hieran seien die Resultate meiner Arbeit, soweit sie sich auf die geistreiche Theorie Ehrlichs beziehen, erörtert. Sie betreffen wesentlich zwei Punkte, gegen welche auch so kompetente Forscher wie Bordet, Buchner und Gruber Widerspruch erhoben haben: die erwähnte unbedingte Notwendigkeit eines Zwischenkörpers auch für die Aktion normaler Sera und die Vielheit der Komplemente eines Serums.

Was zunächst letzteren Punkt betrifft, so haben meine Versuche in keiner Weise eine Stütze für die Ehrlichsche Anschauung ergeben. Wenn wirklich für die verschiedenen Funktionen eines Serums, also für seine mannigfaltigen hämolytischen und mikrobiciden Wirkungen auf die vielen empfindlichen Elemente auch verschiedene Komplemente vorhanden wären, so sollte aller Wahrscheinlichkeit nach das betreffende Komplement auch von dem Reaktionskörper, für dessen Auflösung bezw. Abtötung es bestimmt ist, in erster Linie absorbiert werden. Würde man also z. B. Typhusbacillen mit Rinderserum in Kontakt bringen, so müſste doch, wenigstens vorwiegend, die durch Absorbierung des gegen sie gerichteten Komplementes ausfallende Funktion, also die Baktericidie für Typhusbacillen, verschwinden, die übrigen baktericiden und hämolytischen Komplemente für andere empfindliche Zellen, wie Choleravibrionen oder Meerschweinchen- und Kaninchenblutkörperchen aber intakt bleiben. Nach meinen Erfahrungen ist dies aber nicht der Fall, sondern die Aktivität des Serums verliert sich bei Kontakt mit Bakterien, Organzellen und Eiweiſspartikelchen proportional der mehr oder weniger groſsen Empfindlichkeit der Reaktionsobjekte gegen die Alexinwirkung überhaupt.

Allerdings werden ja solche Absorptionsversuche auch nie eine Entscheidung gegen die Vielheit der Komplemente bringen können, da es immerhin möglich ist, daſs der betreffende Körper zu allen Komplementen des Serums gleiche Verwandtschaft hat und so alle absorbiert. Damit würde aber bei der so engen Beziehung zwischen Absorption und Wirksamwerden der Alexine diese Verschiedenheit der einzelnen Komplemente eines Serums an praktischer Bedeutung verlieren.

Auch für die Notwendigkeit eines Zwischenkörpers, für das Zustandekommen der normalen Serumwirkung haben meine Versuche keine Anhaltspunkte ergeben. Wenn die normalen Amboceptoren den spezifischen völlig analog sich verhielten, so müſsten sie, auch wie diese, in der Kälte von dem passenden Reaktionskörper gebunden werden, wie das Ehrlich für letztere nachgewiesen hat. Ein Serum also, welches bei 0°

mit toten Bakterien in Kontakt war, müſste dann auch völlige oder doch viel erheblichere Abnahme seiner Wirkung für diese Bakterienart im lebenden Zustande zeigen, als das bei vorsichtiger Einhaltung der niedrigen Temperatur in der That der Fall ist.

Meiner Ansicht nach harmonieren die mitgeteilten Resultate über die Absorption des Alexins am besten mit den theoretischen Anschauungen Buchners[23]) über die Natur der Alexine, wie er sie zuerst in seinem Vortrag auf der Naturforscher- und Ärzteversammlung in München formuliert hat. (Vgl. auch Wassermann[21]). Darnach haben wir dieselben als von den Leukocyten secernierte proteolytische Endoenzyme aufzufassen, denen ganz allgemein die Aufgabe zukommt, alles dem Körper Fremdartige, Schädliche, Krankhafte im Innern der Gewebe aufzulösen und zu beseitigen. Gerade derartige Substanzen, wie tote und lebende Bakterien, Hefezellen, fremde Erythrocyten, zertrümmerte Gewebszellen des eigenen Körpers und unlösliche Eiweiſsstoffe sind es ja nun auch nach meinen Beobachtungen, die auſserhalb wie innerhalb des Organismus absorbierend auf die Alexine einwirken können. Letztere würden also durch diese ihrer verdauenden Wirkung mehr oder weniger unterworfenen Substanzen etwa in derselben Weise beeinfluſst, wie auch die proteolytischen Enzyme des Verdauungstraktus also Pepsin, Trypsin durch Fibrin gebunden werden können. Die Absorbierbarkeit als allgemeine Eigenschaft der Alexine steht also mit ihrem Charakter als Enzyme durchaus in Einklang.

Wenn nun im Tierkörper die Phagocyten dieselben Leistungen verrichten, so harmoniert auch das sehr gut mit unserer Auffassung. Sprechen doch manche Umstände dafür, daſs die Leukocyten mit der Alexinproduktion in direktem Zusammenhange stehen, und es ist somit durchaus plausibel, wenn diese Zellen eben durch ihre Enzyme — die Alexine — zur Erfüllung dieser Aufgaben besonders ausgerüstet sind. Daneben kann es aber nicht befremden, daſs diese Enzyme nun auch selbständig auſserhalb der

Mutterzelle in Thätigkeit treten, wie denn nach den oben mitgeteilten Tierversuchen **auch im Tierkörper** für die Bekämpfung wenigstens gewisser Infektionserreger **in erster Linie** das **extra cellulär vorhandene, freie Alexin** in Betracht kommt.

Zum Schlufs glaube ich die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Beeinflussung der Alexine durch Absorption in folgenden Sätzen zusammenfassen zu können:

1. Durch Kontakt mit den verschiedensten Elementen, nämlich lebenden und besonders abgetöteten Bakterien, Hefezellen, roten Blutkörperchen und zertrümmerten Organzellen, endlich durch unlösliche Eiweifsstoffe, in erster Linie Aleuronat, kann die baktericide und hämolytische Wirkung der Alexine von Rinder-, Hunde- und Kaninchenserum vollständig beseitigt werden, ebenso ersteren zwei Seris die Giftigkeit für den Meerschweinchenorganismus genommen werden.

2. Diese Aufhebung der aktiven Eigenschaften der genannten Sera erfolgt durch die Bindung des Alexins an den Reaktionskörper und beruht auf chemischer, nicht nur physikalischer Absorption.

3. Nicht nur die Menge und Zeit, in welcher diese Substanzen mit dem Serum in Kontakt kommen, ist dabei von mafsgebendem Einflufs, sondern auch die Temperatur, bei welcher die Mischungen gehalten werden, so dafs bei sorgfältiger Einhaltung einer Temperatur von 0° keine oder nur ganz unbedeutende Absorption des Alexins eintritt.

4. Eine Regeneration des einmal gebundenen Alexins findet nicht statt.

5. Durch Erhitzen auf Siedetemperatur wird das Absorptionsvermögen der genannten Substanzen nicht aufgehoben.

6. Eine Stütze für die Vielheit der Alexine eines Serums, sowie für die Notwendigkeit eines besonderen Zwischenkörpers für das Zustandekommen der Alexinwirkung normaler Sera im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie haben diese Absorptionsversuche nicht ergeben.

7. Auch im Tierkörper kann Bindung des Alexins eintreten, so daſs Meerschweinchen der intraperitonealen Infektion einer an sich nicht tödlichen Dosis von Cholera- und Typhusbacillen erliegen, wenn zugleich mit diesem eine gewisse Menge solchen absorbierenden Materials den Tieren einverleibt wurde.

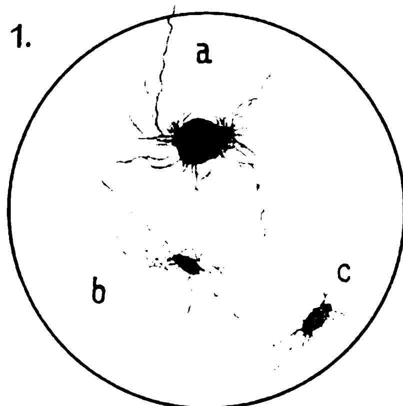
8. Daſs der Grund hierfür in der Bindung des freien Alexins zu suchen ist, beweisen Kontrollversuche mit Aleuronat, welchem vorher durch Sättigung mit fremdem Alexin die Fähigkeit, noch weiteres Alexin zu binden, genommen war; so präpariertes Aleuronat wirkt im Gegenteil günstig auf den Verlauf der Infektion, da das infolge des vom Aleuronat gesetzten Reizes des Peritoneums in stärkerem Maſse zutretende Alexin nun ungehemmt die injizierten Mikroorganismen vernichten kann. Diese Versuche bringen zugleich einen sicheren Beweis für die Wichtigkeit des Alexins bei der Bekämpfung derartiger Infektionserreger

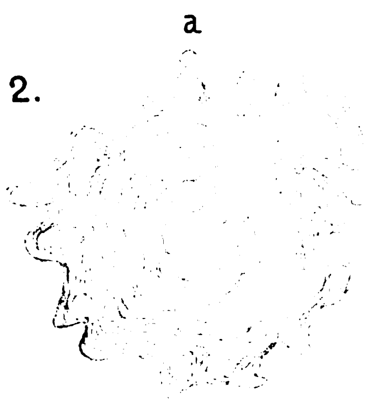
Litteraturverzeichnis.

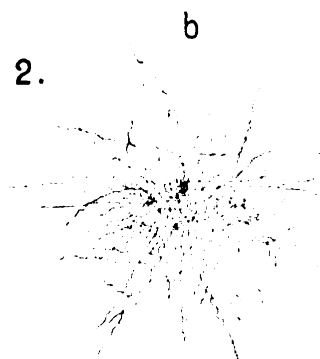
1. H. Buchner, Archiv für Hygiene, Bd. X, S. 84.
2. Derselbe, Archiv für Hygiene, Bd. XVII, S. 112.
3. F. Nissen, Zeitschr. für Hygiene, Bd. VI, S. 487.
4. S. Bonaduce, Zieglers Beiträge, Bd. XII, S. 353.
5. W. Kruse, ebenda, S. 333.
6. A. Bastin, La cellule, Bd. VIII, p. 383.
7. Denys und Kaisin, ebenda, Bd. IX, p. 337.
8. L. Schneider, Archiv für Hygiene, Bd. XXVIII, S. 93.
9. O. Bail, ebenda, Bd. 35, S. 284.
10. Baumgarten, Jahresbericht, Bd. XV, S. 781, Anm.
11. H. Conradi, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXXIV, S. 185.
12. M. Wilde, ebenda, Bd. XXXVII, S. 476.
13. Bordet, Annales Pasteur, Bd. XII, XIII und XIV.
14. Ehrlich und Morgenroth, Berlin. klin. Wochenschr. 1899, 1900, 1901.
15. Bordet und Gengou, Annales Pasteur, Bd. XV, p. 289.
16. M. Neisser, Deutsche Med. Wochenschrift, 1900, S. 790.
17. v. Dungern, Münchn. med. Wochenschr., 1900, S. 677.
18. F. Wechsberg, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXXIX, S. 171.
19. Levaditi, Annales Pasteur, Bd. XV, p. 894.
20. Issaeff, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XVI.
21. Wassermann, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXXVII S. 173.
22. Besredka, Annales Pasteur, Bd. XV, p. 209.
23. H. Buchner, Münchn. med. Wochenschrift, 1899, S. 1261.
24. M. Wilde, Berl. klin. Wochenschrift, 1901, Nr. 34.
25. H. Buchner, Berl. klin. Wochenschrift, 1901, Nr. 33.
26. Neisser und Wechsberg, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXVI, S. 299.

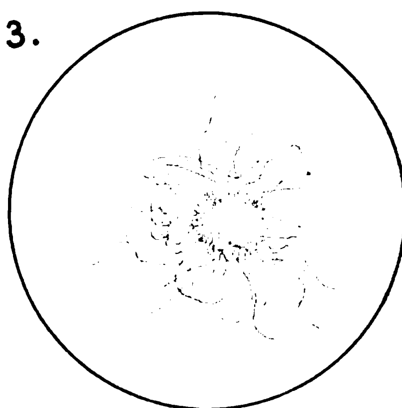
Nachtrag bei der Korrektur.

Die ausführliche Arbeit von Ehrlich und Sachs (Berl. Klin. Wochenschr. 1902 Nr. 14 u. 15), in welcher diese Autoren den strikten Beweis für die Vielheit der Komplemente eines Serums geliefert zu haben glauben, erschien nach Abschlufs meiner Versuche und konnte ich daher leider ihre Ergebnisse nicht mehr für die vorstehenden Ausführungen verwerten. Ob damit diese Streitfrage nun endgültig im Sinne der Ehrlichschen Theorie entschieden ist, kann hier nicht mehr erörtert werden. In Übereinstimmung mit den Resultaten meiner Versuche gelang es auch ihnen nicht, bei der Absorption des Alexins durch Hefezellen, Bakterien und Organzellen eine Trennung der Complemente zu erzielen. Wenn nun aber Ehrlich und Sachs in der Alexinabsorption durch diese Elemente nur einen physikalischen Vorgang sehen wollen, so kann ich dem aus den oben (S. 64) angeführten Gründen nicht beistimmen; fanden doch auch sie solche fein verteilte Substanzen, welche sonst in erster Linie zur physikalischen Attraktion der Enzyme befähigt sind, wie Tierkohle, Lycopodiumpulver, Kieselguhr, gerade so wie ich für die Absorption der Alexine wenig oder gar nicht geeignet; das spricht doch jedenfalls gegen ihre physikalische Auffassung des Phänomens.



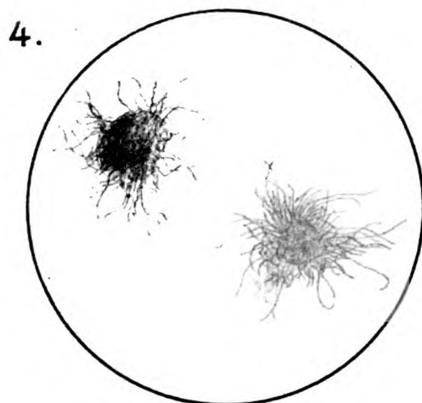




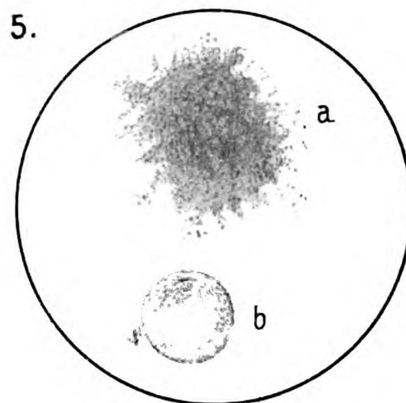


Verlag von R. Oldenbourg in München.

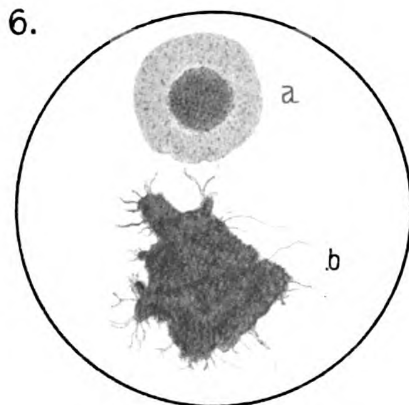
4.



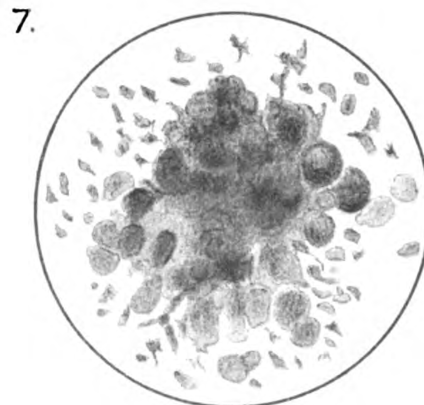
5.



6.



7.



Beitrag zur kulturellen Typhusdiagnose.

Von

Dr. **Friedrich Krause,**
Hilfsassistenten am Institute.

(Aus dem königlichen hygienischen Institut Posen. Direktor: Medizinalrat Professor Dr. Wernicke.)

(Mit Tafel I.)

Die Langwierigkeit und Unsicherheit der klinischen Typhusdiagnose, das bisweilen späte Auftreten der Serumreaktion (nach Gruber-Widal), sowie die Überlegung, dafs der Typhus wohl stets als Darminfektion aufzufassen ist, hervorgerufen durch die Aufnahme infizierter Nahrungsmittel oder verseuchten Trinkwassers, liefsen es schon lange als wünschenswert erscheinen, durch den Nachweis des Erregers in den Fäces eine Frühdiagnose zu ermöglichen. Auch in epidemiologischer Hinsicht ist es wichtig, in dem infizierten Trinkwasser schnell und sicher die Typhusbacillen aufzufinden.

Da das färberische Verhalten den Typhusbacillus in nichts vor ähnlichen Kurzstäbchen auszeichnet und auch seine Gelatinekolonien ihn nicht von der fast ganz gleich wachsenden Sippe der Colibakterien unterscheiden lassen, suchte man zunächst seine übrigen kulturellen Eigenschaften differentialdiagnostisch zu verwerten. Von diesen wurde vor allem die Säurebildung infolge ihres Einflusses auf manche Farbstoffe von verschiedenen Seiten ins Auge gefafst (Lackmus: Petruschky, Friedrich Müller — Neutralrot: Rothberger etc.). In neuerer Zeit ist die Gasbildung in Reagensglasschüttelkulturen mit Erfolg verwertet.

Aber Säureproduktion ebensowie Gasbildung und vollends Indolerzeugung, Wachstum auf Kartoffelnährböden, Milchgerinnung als Wirkung der Säurebildung genügen nicht, wenn es sich darum handelt, auf einer Platte aufkeimenden Kolonien ein charakteristisches Gepräge zu geben.

Von den Methoden zur Isolierung des Typhusbacillus verdient wohl das von Gabritschewsky[1]) an erster Stelle erwähnt zu werden, dem es unter Umgehung eines spezifischen Nährbodens, lediglich unter Benutzung der lebhaften Beweglichkeit, durch sterilisierte feuchte Fliefspapierblättchen, die er auf die Agaroberfläche legte, zweimal gelang, Typhusbacillen aus Fäces zu züchten.

Eine Reihe von Untersuchern vermeinten durch Zusatz entwicklungshemmender Stoffe zum Ziel zu gelangen, die das Wachsen der Begleitbakterien verhindern, den Typhusbacillus aber gerade noch aufkommen lassen sollten. Da das Bact. Coli, der schlimmste Nebenbuhler des Typhusbacillus, aber alle Hindernisse viel leichter überwindet als der Typhusbacillus, so besteht für das Verwenden einer Anreicherungsflüssigkeit (Thoinot, Parietti) die Gefahr, dafs in einer gewissen Zeit das Bact. Coli den Typhus völlig überwuchert[2]); während die Methoden, welche das Hemmungs-

---

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., 35, 1900.

2) Loesener erhielt, als er 10 ccm Bouillon mit 1 ccm Typhusbouillonkultur und einer ganz kleinen Öse Colibouillonkultur beimpfte, nach 24 Stunden bei 37° fast ausschliefslich Colikolonien.

Nach vorläufig vom Verfasser angestellten Versuchen hat es den Anschein, als ob bei einer Parallelimpfung von Coli-Typhusmischung in Bouillon und der von Weil (s. u.) benutzten Anreicherungsflüssigkeit das Vermehrungsverhältnis von Coli zu Typhus bei Benutzung der Anreicherungsflüssigkeit bezüglich des Typhus ungünstig beeinflufst wird im Vergleich zur gewöhnlichen Bouillon.

Im Gegensatz zu Weil berichtet Müller, Zeitschr. f. Hyg., XX, S. 270, dafs in Bouillon der Typhus sich innerhalb der ersten 2—3 Stunden überhaupt nicht vermehrt (Hehewerth, Archiv f. Hyg., Bd. XXXIX). Als Ruhezeit, von der ab sich die Typhusbacillen erst vermehren, gilt 1 bis 2 Stunden. Die Generationsdauer ist nach H. bei B. typhi in Bouillon länger als die von B. coli, B. typhi ist gegen Karbolsäure empfindlicher als coli. 0,05 proz. Karbolsäure hat aber weder auf Typhus noch Coli einen hemmenden Einflufs.

mittel einem festen Nährboden zusetzen, indem sie die einzelnen Keime in ihrer Lage fixieren, durch Erzeugung einer erheblichen Gröfsendifferenz zwischen Typhus- und Colikolonien schon mehr Hoffnung auf Erfolg bieten. (Chantemesse, Widal, Holz, Elsner, Remy[1]).

Als ein Wendepunkt in der kulturellen Diagnose des Typhus ist es anzusehen, dafs Werner Rosenthal[2]) 1895 darauf aufmerksam machte, dafs in 2,5 oder 3,3 proz. Nährgelatine Bact. Coli und vor allem Typhus in ganz eigentümlichen, mit geraden und spiraligen Fäden versehenen Kolonien sich entwickelten. Das lockere Wachstum und das Treiben von spirillenartigen Ausläufern stellte er als diagnostisches Hilfsmittel für die Diagnose des Typhusbacillus auf. In einer Nachprüfung fand Klie, dafs es Vertreter der Colispecies gibt, welche auf der geringprozentigen Gelatine die gleichen Kolonien zu stande bringen wie der Typhusbacillus.

Während im Jahre 1890 J. Heller[3]) auf den Wert des Harns als Substitut des Fleischwassers zur Herstellung bakteriologischer Nährböden aufmerksam gemacht hatte, stellte 1896 Piorkowski eine 10—12 proz. Gelatine und einen 2 proz. Agar her, zu denen er als flüssiges Substrat 0,5 proz. Peptonharn verwandte. Auf der Gelatine beschreibt er Typhuskolonien, die zwar dauernd mikroskopisch klein, aber mit regelmäfsig ringsherum angeordneten feinsten Ausläufern versehen waren, erhalten zu haben, und zwar bei 18° C.

Es ist Verfasser nicht gelungen, unter den von Piorkowski angegebenen Bedingungen mit Ausläufern versehene Typhuskolonien zu Gesicht zu bekommen. Sie waren vielmehr auf der Gelatine stets kreisrund, verbreiteten sich auf der Oberfläche in der gewöhnlichen Weise häutchenförmig und zeichneten sich

---

1) Remy, Ref. Centralbl. f. Bakt., XXIX, S. 459.

2) W. Rosenthal, Beobachtungen über die Variabilität der Bakterienverbände und der Kolonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen. Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. 55. Autor-Ref. Baumgartens Jahresbericht.

3) Ref. Centralbl. f. Bakt., IX, 511. (Berl. klin. Wochenschr. Nr. 39, 1890.)

höchstens durch ihr verlangsamtes Wachstum vor den gleichen Kolonien auf gewöhnlicher Nährgelatine aus.

Die Kolonien auf Harnagar waren fast mikroskopisch klein, stechapfelförmig; Typhus und Coli glichen einander völlig.

In der Sitzung der Berliner medizinischen Gesellschaft[1]) vom 25. Januar 1899 veröffentlichte Piorkowski ein einfaches Verfahren zur Sicherstellung der Typhusdiagnose, indem er die Verwendung gering- ($3\frac{1}{3}$-) prozentiger Gelatine von Rosenthal mit der Benutzung des Harns als Nährboden (Heller) kombinierte. »Bei den bisher von ihm verwendeten Typhusstühlen konnte Piorkowski die Diagnose stets sicher stellen.«

Zahlreiche Nachprüfer waren in ihren Resultaten nicht so glücklich.

Es stellte sich sehr bald heraus, dafs einerseits auch beim Arbeiten mit Reinkulturen nicht alle Kolonien das von Piorkowski beschriebene, für Typhus typische Aussehen erlangen, während man anderseits sehr typhusähnlichen Kolonien auf Fäcesplatten begegnete, die sich beim Abimpfen als Bact. Coli herausstellten. (Wittich.) So machte Herford die Bemerkung, dafs gerade in Typhusstühlen die lebhafstest beweglichen Coliarten zu finden waren, deren Harngelatinekolonien auch bei wiederholter Aussaat durchaus als Typhuskolonien imponierten. In einer schleimigen, grünlich gefärbten Stuhlprobe fand Peppler bei der Aussaat in Harngelatine Kolonien, »die eine bedenkliche Ähnlichkeit mit denen des Typhus« aufwiesen; mit deutlichen, langgestreckten Ausläufern, die nur nicht so zahlreich waren wie bei wirklichen Typhuskolonien. Er konnte sie acht Tage lang im Stuhl nachweisen. In seinem Fall IV erwiesen sich mehrere besonders schön ausgebildete Typhuskolonien bei der Prüfung als solche des Bact. Coli. Die eingehendsten Studien über diesen Punkt haben wohl Bischoff und Menzer gemacht; sie konstatierten von ihren 45 Stämmen auf der Originalplatte typische Flagellatenformen bezw. typische Geflechte bei 25 Colistämmen, auf der ersten Verdünnung, wo die Neigung

1) Ref. Centralbl. f. Bakt., XV, S. 319.

der Kolonien Ausläufer zu bilden, entschieden geringer ist, noch bei 8 Colistämmen (= 17,7 %!) durchaus typhusähnliche Kolonien.

Eine Reihe von Mifserfolgen hatte Clemm; so fand er, dafs sein eigenes Bact. Coli auf Harngelatine dem Typhus sehr ähnelte. Ferner züchtete er aus Kot, Erde, Schmutzwasser eine Reihe (9) von Bakterien, die das Bild der Typhuskolonie auf Harngelatine mehr oder weniger exakt nachahmten. Bei einem Fall von Miliartuberkulose hatten seine Platten in der typischen Zeit völlig das Aussehen von Typhusplatten; ferner bildete ein Bac. acidi lactic. typische Typhuskolonien.

Schliefslich sei noch erwähnt, dafs Peppler bei einer typhusverdächtigen Wasserprobe langgefaserte Kolonien fand, »die in ihrem Aussehen mit Typhus übereinstimmten«, die Identitätsserumreaktion als solche aber nicht bestanden.

Zu Vorstehendem ist zu bemerken, dafs man wohl im allgemeinen gut thun wird, für das typhusähnliche Wachstum eines Colibacillus bei der Aussaat in dünne Harngelatine nur in den Fällen, wo bei wiederholter Probe das Resultat das gleiche ist, den Stamm als solchen zu beschuldigen, und auch die Bestandteile, Herstellungsart und Alter des Nährbodens als ursächlichen Teil in Frage zu ziehen. Für diese Auffassung dürfte eine Beobachtung von mir sprechen, nach der ein typisches, mit allen charakteristischen Eigenschaften ausgerüstetes Bact. Coli, aus Noma gezüchtet, auf einer Harngelatine für die Dauer von 40 Stunden exquisit typhusartig wuchs, während es sonst nur runde, höchstens mit zopfartigen, wurstförmigen Auflagerungen versehene Kolonien zeigte. Allerdings waren die Platten im Hochsommer auf dem Eisschrank bei einer Temperatur von 24° C. gehalten, bei der parallel beimpfte Harnstoffgelatine bereits geschmolzen war.

Die Nachprüfer zogen daher aus ihren Arbeiten auch den Schlufs, dafs das Verfahren der Züchtung mit gering prozentiger Harngelatine die bakterielle Diagnose des Typhus zwar wesentlich unterstütze, dafs es aber, weil zahlreiche Colistämme ganz typhusähnliche Kolonien treiben, nicht statthaft sei, ohne

Abimpfung und Nachprüfung eine fragliche Kolonie als Typhus anzusprechen.

Aber noch weitere, schwerer wiegende Nachteile der geringprozentigen Harngelatine stellten sich bald heraus. Haiaschikawa[1]) gibt neuerdings an, was auch schon Piorkowski als absolut erforderlich betonte, dafs die Gelatineplatten bei einer Temperatur von 22° C. zu halten seien. Bereits Krause[2]) erklärte es im Sommer fast für unmöglich, mit 3,3 proz. Gelatine zu arbeiten. Desgleichen Gebauer und Ewall. Wenn man bedenkt, welchen Störungen bereits ein auf Bruttemperatur eingestellter Thermostat ausgesetzt ist, wird man die entstehenden Schwierigkeiten leicht einsehen, da im Sommer auch die Kellertemperatur gelegentlich 18—19° C. beträgt. Verfasser sind sehr häufig die dicht mit feuchten Tüchern zugedeckten, ohne Benutzung eines Thermostaten auf dem Eisschrank aufgestellten Platten geschmolzen.

Wenn der geringprozentigen Gelatine schon eine etwas höhere Zimmertemperatur gefährlich wird, so vermag sie gar keinen Widerstand der Wirkung auch nur schwachpeptonisierender Bakterien entgegenzusetzen, wie sie in den Fäces nicht zu selten angetroffen werden und im Wasser ziemlich regelmäfsig vorhanden sind. So berichtet Clemm, dafs ihm Platten in ihrer ganzen Ausdehnung durch Verflüssigung zu Grunde gegangen sind. Haiaschikawa konnte in seinem Fall 15 zu keinem Resultat kommen, weil bei zweimaliger Untersuchung seine Platten schon nach 20 Stunden völlig verflüssigt waren.

Ein weiterer und vielleicht der gröfste Mangel am Nährboden ist seine Ungleichmäfsigkeit infolge der Verwendung von Harn zu demselben. Die äufserst wechselnde Zusammensetzung dieses Stoffwechselproduktes und seine leichte Veränderlichkeit, namentlich unter dem Einflufs höherer Temperaturgrade stellten das Gelingen des Nährbodens in vielen Fällen dem Zufall anheim.

---

1) Zeitschr. f. Hygiene, 1901.

2) Ref. Centralbl. f. Bakt., XXVIII, S. 884.

Nicht jeder Harn eignet sich z. B. nach G. Mayer[1]), vor allem nicht der von Leuten mit ausschliefslicher Fleischkost; er macht den stärkeren Säuregrad dafür verantwortlich.

Krause[2]) fand unter 80 Harnen nur zwei ganz taugliche. Bischoff und Menzer bemängelten vor allem, dafs die Angabe des spezifischen Gewichtes (1020) seitens Piorkowskis nicht genüge, um einen Harn von bestimmten Eigenschaften zu charakterisieren.

Vor allem war es die Reaktion, welche den verschiedenen Autoren grofse Schwierigkeiten bereitete. Hatte doch Piorkowski ausdrücklich vorgeschrieben, einen Harn zu verwenden, der durch 2—3 Tage langes Stehen auf natürlichem Wege die alkalische Reaktion angenommen habe[3]), da eine künstlich alkalisierte 3proz. Gelatine die Temperatur von 22° nicht aushalte. Zur Erzeugung einer natürlichen Alkalinität vergor Peppler den Harn mit Bact. ureae, G. Mayer mit Proteus. Dabei sind mit dem Vorhandensein eines schwach alkalischen Harnes noch nicht alle Schwierigkeiten behoben. So beobachtete Haiaschikawa, dafs bei Verwendung von schwach alkalischem Harn die Gelatine oft eine stark alkalische Reaktion zeigte, bisweilen war die alkalische Reaktion sehr herabgesetzt. Er führt die Differenzen in der Reaktion auf die wechselnde Menge des bei der Sterilisation zersetzten Harnstoffs zurück. So ist es denn auch erklärlich, dafs trotz aller Vorsicht in der Herstellung Bischoff und Menzer oft genötigt waren, erhebliche Mengen des Nährbodens zu verwerfen.

Alle diese Mängel veranlafsten Clemm zu dem Bestreben, »den wenig appetitlichen, im Alkalescenzgrade stets schwankenden und wegen seines niederen Schmelzpunktes bei geringster Er-

1) Centralbl. f. Bakt., XXVIII.

2) Münchner med. Wochenschr., 1900, 6, bei Bischoff und Menzer.

3) Peppler wendet sich eingehend gegen diesen Punkt; er hat bei seinen Versuchen nur bei zwei Harnproben in 3 Tagen bei einer Temperatur von 20° C. alkalische Reaktion erhalten; während neun von zehn Proben, bei einer mittleren Jahrestemperatur (10° C.) aufbewahrt, noch nach 8 Tagen sauer reagierten.

höhung der Temperatur über 22° sehr schwer in festem Zustande zu haltenden Nährboden durch einen ähnlichen von gröfserer Gleichmäfsigkeit zu ersetzen.« Er versuchte daher statt des Harns seine wichtigsten chemischen Bestandteile in Lösung, sowie eine Auslaugung der Harnkohle und -Asche der Gelatine zuzusetzen, doch ohne so zu befriedigenden Erfolgen zu gelangen.

Eine Reihe von Untersuchern wandte sich wieder der ursprünglichen Rosenthalschen Richtung zu und versuchte die Typhusdiagnose unter Umgehung des Harns vermittelst der einfachen $3^1/_3$ proz. Pepton-Fleischwassergelatine, kamen dabei aber zu gänzlich verschiedenen Resultaten. Während Herford auf der dünnen Fleischwassergelatine nur einmal typische Typhuskolonien erhalten konnte, sonst aber stets zu negativen Ergebnissen kam, gaben Bischoff und Menzer, Haiaschikawa und Peppler nur an, dafs auf der Harngelatine die Ausläufer der Typhuskolonien doch zahlreicher und besser ausgebildet seien, sowie, dafs das Centrum der Kolonie gegenüber den Ausläufern mehr zurücktrete. Im Gegensatz hierzu steht die Beobachtung Wittichs, der bei paralleler Beimpfung von Harngelatine und gewöhnlicher dünner Gelatine auf einzelnen Platten gleichgeartete und nicht auseinanderzuhaltende Kolonien desselben Falles erhielt und daher die Möglichkeit andeutete, die Harngelatine durch eine gewöhnliche geringprozentige zu ersetzen. Noch weiter ging Mayer in diesem Punkt, welcher fand, dafs die Typhuskolonien auf neutraler Fleischwassergelatine ausgeprägter und viel rascher wuchsen als auf der Harngelatine. Er kam daher auch zum Schlufs, dafs der Gelatine, die aus Harn, mit Bact. Proteus vergoren, hergestellt war, eine absolut $3^1/_3$ proz. Pepton-Fleischwassergelatine ziemlich gleichwertig sei.

Den Mangel der leichten Schmelzbarkeit zu beseitigen, riet Piorkowski, 6 proz. Harngelatine bei 28° C. zu halten, einer Temperatur, bei der sie nach Haiaschikawa schmilzt. In der gleichen Absicht versuchten Stroddart und Hifs, die Gelatine mit Agar zu versetzen. Weil gab einen gelatinelosen Kartoffelagar an. Alle drei letztgenannten Autoren arbeiteten ohne Harnzusatz.

Stroddarts[1]) Nährboden enthielt ½% Agar, 5% Gelatine und sollte bei 35° gerade noch fest sein. Es sollte der Typhus auf diesem Nährboden eine gleichmäſsige Trübung hervorrufen und sich rasch in dem ganzen Substrat ausbreiten, das Bact. Coli auf die Stelle der Impfung beschränkt bleiben und hier eine geschlossene Auflagerung bilden. Sehr bald fanden sich aber Coliarten, die sich in der für Typhus charakteristischen Weise ausbreiteten. Die Unzuverlässigkeit der Methode wurde von Stroddart selbst zugegeben.

Hiſs[2]) glaubte, daſs infolge seiner Motilität Typhus auf festweichen Nährböden anders wachsen müsse als Bact. Coli. Er empfahl daher für die Plattenkultur einen 2proz. Agar, auch unter Beimischung von 5% Gelatine, hergestellt mit 1% Fleischextrakt und 1% Kochsalz. Der auf Phenolphthaleïn neutrale Nährboden enthielt einen Zusatz von wenigstens 2% Normalsalzsäure (= 0,18% Milchsäureacidität s. u.) und 10% Glucose.

Es ist zu bemerken, daſs dieser Nährboden bereits einem groſsen Teil der Bedingungen, die für einen Typhusnährboden zu stellen sind, gerecht wird.

Bei 37° sind auf diesem Nährboden die Typhuskolonien klein, rund, grünlich bis gelblich, fast sämtlich mit faden- und büschelförmigen Ausläufern versehen. Die tiefen Colikolonien sind viel gröſser, rund oder wetzsteinförmig. Wenn Colikolonien fadenförmige Ausläufer besitzen, so verlaufen sie nach Hiſs meist parallel dem Rande der Kolonie und stehen nicht in sichtbarer Verbindung mit demselben. Verdächtige Kolonien rät Hiſs, in einem 0,5proc. Agarnährboden mit 8% Gelatine, 1% Glucose und 1% Normalsalzsäure abzustechen, den Typhus diffus trüben soll, während Bact. Coli dies höchst partiell thut.

Bezüglich dieses letzten Nährbodens sei gleich bemerkt, daſs es sehr erklärlich ist, daſs der stark bewegliche Typhus einen fast flüssigen Nährboden ganz durchsetzt. Nach meinen ähnlichen Versuchen thut dies jedes gut bewegliche Bact. Coli auch.

1) Ref. Hygien. Rundschau, VIII, S. 116.

2) Ref. Hygien. Rundschau, IX, S. 1288.

Von der Gelatine sagte sich Weil[1]) gänzlich los, der für die Reinzüchtung des Typhusbacillus einen 0,75 proz. Kartoffelsaft-Fleischwasseragar von schwach saurer Reaktion empfahl. Von meinem hochverehrten Chef, Herrn Professor Wernicke, zu einer Nachprüfung dieser Arbeit aufgefordert, werde ich es versuchen, im folgenden meine hierbei gefundenen Resultate mitzuteilen.

Es wurde begonnen mit Herstellung des Weilschen Agars und seiner Prüfung durch Aussaat von Typhus und Bact. Coli rein und beide gemischt. Da aber die Resultate den Erwartungen doch nicht ganz entsprachen, suchte ich die Gesichtspunkte festzulegen, nach denen ein Nährboden, der durch die Gestalt der Kolonien die Diagnose des Typhusbacillus ermöglichen soll, zusammengesetzt sein mufs, und eventuell einen neuen Nährboden von möglichst einfacher und gleichmäfsiger Zusammensetzung und sicherer Handhabung herzustellen.

Während die Mehrzahl der Untersucher die Frage nach dem Entstehen der Ausläufer unberücksichtigt lassen, sprachen sich einige, unter ihnen Herford und Hifs, ganz entschieden dafür aus, dafs es lediglich die leichte Beweglichkeit der Art sei, welche die Ausläufer erzeuge. Aber schon Klie und später Bischoff und Menzer führen sie auf ein Auswachsen der Typhusbacillen zu Fäden zurück. Dafs dem thatsächlich so ist, läfst sich zunächst in der Art beweisen, dafs man auf bereits gegossene Platten des Nährbodens den Typhus in zarten Strichen oberflächlich aufträgt (Piorkowski). Durch Klatschpräparate kann man sich dann überzeugen, dafs der Typhus nicht in einzelnen Kurzstäbchen gewachsen ist wie Bact. Coli, sondern in mehr oder weniger langen und dicken fädigen Gebilden. Ferner beobachtet man häufig bei sehr beweglichen Coliarten auf der dünnen Harngelatine doch ganz oder fast ganz runde Kolonien ohne Ausläufer. Sodann müfste man auch bei der Aussaat anderer leicht beweglicher Bacillen als Typhus, z. B. Fluorescens, Pyocyaneus, Proteus schöne lange Ausläufer erhalten. Die Kolonien dieser

1) Hygien. Rundschau, 1901, Nr. 10.

Bakterien sind aber auf Gelatineagar ganz anders gestaltet, nämlich kreisrund, sehr zart gefärbt und lassen in die Umgebung verstreute kleinste Partikelchen und Tochterkolonien erkennen. Schliefslich bildete ein gänzlich unbeweglicher, aber zu langen Fäden auswachsender Bacillus auf Harnstoff-Gelatineagar (s. u.) dieselben zerfaserten, ausläuferreichen Kolonien wie Typhus.

Es ist also erforderlich, dafs der Nährboden den Typhusbacillus mit einer möglichst reichlichen Fadenbildung wachsen läfst; gleichzeitig mufs der Nährboden eine so reiche Konsistenz haben, dafs sich die gebildeten Fäden nach allen Richtungen hin ungehindert fortpflanzen können.

Damit der Typhusnährboden seiner Aufgabe gerecht werde, ist es also dringend nötig, dafs beide Bedingungen bei ihm erfüllt sind.

Mit der Fadenbildung benutzt man eine Wachstumseigentümlichkeit, die der Typhusbacillus schon auf unseren gewöhnlichen Nährböden sehr häufig zeigt, die wir auch bei gewissen anderen Baktierien, z. B. Cholera, gelegentlich beobachten und als Involutionsformen auffassen. Von seinem Rivalen, dem Colibacillus, unterscheidet er sich hierin auch wieder nur graduell. Es hängt dies augenscheinlich mit der Eigenschaft des Typhus zusammen, schädigenden Einflüssen gegenüber sich wesentlich empfindlicher zu zeigen als Coli. Es ist daher nicht zu verwundern, dafs man schon auf gewöhnlicher $3^1/_3$ proc. Peptonfleischwassergelatine Typhuskolonien mit reichlichen fädigen Ausläufern begegnen kann.

Da es der Zweck des Nährbodens ist, eine möglichst reichliche Fadenbildung beim Typhus zu veranlassen, ist es von Interesse, sich der Ursachen der Fadenbildung zuzuwenden. Bischoff und Menzer glaubten sie in dem Mangel der Harngelatine an Nährmaterial zu finden. Dem steht entgegen, dafs der Harnnährboden zwar kein Fleischwasser, wohl aber im Harn genügend Salze, Harnstoff und als Zusatz $^1/_2$% Pepton enthält. In einem Nährboden, der sich aus 1% Pepton, 1% NaCl, $3^1/_3$% Gelatine und Wasser zusammensetzte, ging der Typhus nicht an, Coli bildete kümmerliche kleine, absolut runde Kolonien,

also auch bei ihm waren keine Ausläufer zu erkennen. Auf einem ähnlich zusammengesetzten Peptonwassergelatineagar trieben Coli und Typhus völlig gleichartige, stechapfelförmige, mit kleinen Stacheln besetzte Kolonien. Die excessive Ausläuferbildung bei dicht besäten Platten könnte man als Erschöpfung des Nährbodens auffassen. Richtiger scheint es mir, diesen Vorgang durch die schädigende Einwirkung der Stoffwechselprodukte der Nachbarkolonien zu erklären. Wenn es so schon wenig wahrscheinlich ist, dafs allein der Mangel an Nährmaterial die Fadenbildung hervorruft, so ist man anderseits im stande, durch Hinzufügen gewisser schädigender Stoffe, zu einem an und für sich guten, normalen und zur Genüge nährstoffhaltigen Nährboden die Fadenbildung anzuregen bezw. zu steigern. In diesem Sinne setzte ich 1% Jodkali zu einer 2 pro. Gelatine hinzu und beobachtete davon einen entschieden Ausläufer befördernden Einflufs. Theïsi Matzuschita[1]) fand, dafs Typhus und Bact. Coli auf 5—8 proz. kochsalzhaltigen Agar zu langen, dicken Fäden auswuchsen. Diesen bei oberflächlicher Besäung gefundenen Einflufs des Kochsalzes versuchte ich auch an Tiefenkolonien zu erproben und fand, dafs in einem weichen Pepton-Fleischwasser-Gelatineagar der von 0,5—5,0 gesteigerte Kochsalzzusatz die Versprengung der Kolonie in die Umgebung und Bildung von Tochterkolonien beförderte. Die Kolonien wurden dabei ebenso, je höher der Kochsalzgehalt stieg, successive kleiner. Typhus und Coli hatten ein völlig gleiches und zwar etwa von 1,5% an typisch coliartiges Gepräge. — Auch die Prüfung einer Reihe anderer Metallsalze führte auf dünner Gelatine nur zu negativen Resultaten.

Einen bedeutenden Einflufs auf die Bildung von Involutionsformen übt die Reaktion des Nährbodens aus und zwar, wie dies schon theoretisch vorauszusetzen ist, die sauere. Die Mehrheit der Untersucher gibt an, die besten Ausläufer auf lackmusneutraler Harngelatine erhalten zu haben. Diese besitzt aber für Phenolphthalein bereits einen gewissen Säuregrad. Schon auf gewöhnlichem, etwa 1,5 proz. Agar, dem ein Säuregrad von 0,3%

1) Zeitschr. f. Hygiene, 35, 1900, S. 495.

auf Milchsäure [1]) berechnet, belassen war, konnten an einzelnen Typhus- und Colikolonien Ausläufer bemerkt werden. Der sauren Reaktion in Verbindung mit der weichen Konsistenz ist beim Hissschen Nährboden das Zustandekommen der büschelförmigen Ausläufer zuzuschreiben.

Der sauren Reaktion und ihrem Gehalt an Salzen verdankt es wohl auch die Kartoffel, dafs der Typhusbacillus auf ihr so stark zur Fadenbildung schreitet. Er thut dies auch, wenn man die Kartoffel anderen Nährböden hinzusetzt. So sagt Loesener [2]) von den tief liegenden Typhuskolonien in der Holzschen Kartoffelgelatine, dafs sie teilweise borstenförmige oder zopfartige Ausläufer entsandten. Er fügt hinzu, was die oben angeführte Beobachtung über den Zusatz von 1 % Jodkali zu dünner Pepton-Fleischwassergelatine erhärtet, dafs diese Erscheinungen auf einen Karbolsäurezusatz von 0,03—0,05 % in verstärktem Mafse auftreten. Es ist hierbei zu berücksichtigen, dafs es sich in diesem Falle um eine normale 10proz. Gelatine handelte, welche dem Vordringen der Ausläufer bedeutenden Widerstand entgegensetzt, zumal die Temperatur, bei der die Platten gehalten wurden, eine niedrige war.

Leider ist die Kartoffel, je nach Sorte und Alter, ein zu inkonstant zusammengesetzter Körper, als dafs sie sich eignete, zu dem angegebenen Zweck einem Nährboden zugesetzt zu werden. Auch der neuerdings von Weil benutzte Agar legt Zeugnis dafür ab.

Verfasser hat den Nährboden zweimal nach den Vorschriften des Autors hergestellt; beide Male war der Nährboden schwach sauer. Der zweite Nährboden wurde titriert und zeigte, auf Milchsäure berechnet, 0,19 % Acidität (100 ccm brauchten 2,06 ccm Norm. Na OH zur Neutralisation). Beim ersten Nährboden waren Typhus und Coli oberflächlich und tief absolut gleich, beide breiteten sich, wie mit einem Nebel von feinsten Körnchen, diffus weit in die Umgebung aus. Oberflächenkolonien, wenn auch in ganz geringer

1) 100 ccm Nährboden brauchten zur Neutralisierung 3,3 ccm Normal-Na OH.

2) Arbeiten aus d. kais. Ges.-Amt, XI, S. 234.

Zahl, überwucherten die Platten wegen des sehr reichlichen Kondenswassers völlig. Ein Umstürzen war bei den meisten Platten wegen der geringen Dichte des Nährbodens nicht möglich.

Während mit dem zuerst nach den Angaben Weils hergestellten Nährboden keine einzige gefaserte Kolonie wahrgenommen werden konnte, traten beim zweiten Nährboden auf einigen Platten sehr schöne, äufserst charakteristische Kolonien auf. Andere Platten dieses Nährbodens aber zeigten, obwohl sie mit Typhusreinkultur besät waren, zahlreiche, weit verstreute, absolut coliartige Kolonien, die einen allmählich in die Umgebung übergehenden Nebel von feinsten Körnchen auf weite Strecken hin diffus in die Umgebung verstreuten, während wieder andere Platten nur uncharakteristische Kolonien zeigten. Während die Typhusreinkulturplatten schon so zweifelhafte Resultate zeitigten, liefs der Nährboden bei Mischplatten von Typhus und Bact. Coli gänzlich im Stich, da die Colikolonien stets die Platten überwucherten. Die Mifserfolge mit dem Nährboden beruhen einmal auf der mangelhaften Fähigkeit, die Fadenbildung zu erzeugen; anderseits auf dem Vorhandensein des äufserst reichlichen Kondenswassers, welches der fast zerfliefsende 0,75 proz. Agar auspreſst. Wenn bei dem Weilschen Kartoffelagar zerfaserte Kolonien überhaupt beobachtet werden, so ist ihr Zustandekommen weniger auf die chemische Wirkung des Nährbodens, als auf seine excessiv weiche Konsistenz zurückzuführen und das hieraus resultierende Unvermögen, selbst der geringfügigsten Tendenz der Kolonie zur Ausbreitung Widerstand entgegenzusetzen.

Die konstant guten Erfolge bezüglich des Auftretens der zerfaserten Typhuskolonien mit einem Harngelatineagar veranlafsten Verfasser, den Kartoffelnährboden fallen zu lassen und wieder den Harn als Zusatzstoff zu versuchen.

Es ist hervorzuheben, dafs die Verbindung des Harns mit der geringprozentigen Gelatine ein besonders glücklicher Gedanke war. Es ist dies um so höher anzuschlagen, als die ursprünglich von Piorkowski vorgeschlagenen Hellerschen Nährböden unbrauchbar, der von Rosenthal angegebene in seinen Resultaten doch nur von zweifelhafter Güte war.

Da aber auch die inkonstante Zusammensetzung des Harns zu sehr schwankenden Resultaten führte, der Harn jedoch von allen zu den Nährböden gemachten Zusätzen sich am besten für das Zustandekommen der gefaserten Kolonien eignete, war es von Interesse, zu versuchen, ob es nicht gelänge, durch Verwendung des einen oder anderen seiner chemischen Bestandteile, oder einer Mischung, zu einem einigermafsen verläfslichen Resultate zu gelangen.

Clemm war es, der zuerst den Harn durch seine Bestandteile zu ersetzen trachtete. Er konnte zu keinem positiven Resultate kommen. Den Harnstoff verwandte Kashida[1]) zur Differentialdiagnose zwischen Coli und Typhus unter Benutzung der Eigenschaft des Bact. Coli, in Gegenwart von Milchzucker Harnstoff zu spalten. Er bediente sich eines $1\frac{1}{2}$ proz. Agars, dem er 2% Milchzucker, 1% Harnstoff, 30% Lackmustinktur bei neutraler Reaktion hinzusetzte. Er fand dann beim oberflächlichen Ausstrich von Bact. Coli und Typhus in Petrischalen nach 18 Stunden die Colikultur und ihre Umgebung rot gefärbt; nach 36 Stunden trat die rote Färbung noch deutlicher auf, während die Typhuskultur keine Färbung zeigte. Nach 54 Stunden dagegen nahm die gerötete Colikultur wieder die blaue Farbe an, Der Geruch wurde dann ammoniakalisch.

Die wesentlichen und wohl einzig in Frage kommenden Bestandteile des Harns sind Harnstoff (bis $3\frac{1}{2}$%) und Kochsalz (1—$1\frac{1}{2}$%). Für das Kochsalz ergaben meine bereits angeführten Versuche seines Zusatzes zu Gelatineagar seine Unbrauchbarkeit. Kombinationsversuche mit Harnstoff und Kochsalz bestätigten dies und liefsen es als zweckmäfsig erscheinen, bei Gegenwart von Harnstoff einen Kochsalzgehalt von 1% nicht zu überschreiten. Diese Versuche machen es weiterhin sehr wahrscheinlich, dafs die mangelhaften Resultate Mayers mit Harn nach Fleischkost somit nicht zurückzuführen sind auf die saure Reaktion des Nährbodens, wie er wohl irrtümlich annahm, — es widerspricht dem auch die Titration des Harnstoff-Gelatineagars (s. u.) — sondern auf den hohen Kochsalzgehalt.

1) Centralbl. f. Bakt., XXI, S. 802.

Aus dem soeben Dargelegten folgt, dafs es für die Prüfung eines Nährbodens vorerst notwendig ist, denselben mit Typhus und Bact. Coli oberflächlich zu besäen. Es mufs dann der Typhus zu möglichst üppiger Fadenbildung angeregt werden, während Bact. Coli in seinem normalen kurzstäbchenartigen Wachstum noch nicht gestört sein darf. In zweiter Linie kommt es sodann auf die weiche Konsistenz des Nährbodens an. Dafs sie allein nicht genügt, um die typischen Typhuskolonien zu erzeugen, beweist einmal die gewöhnliche $3^1/_3$ proz. Pepton-Fleischwassergelatine, deren Kolonien normalerweise rund sind. Auf solcher Gelatine entstehen dann zerfaserte Typhuskolonien, wenn sie einen gewissen geringen Grad von saurer Reaktion besitzt, welche als die eigentliche causa movens für die Bildung fädiger Involutionsformen anzusehen ist.

Die Bedingungen für die weiche Konsistenz setzen sich zusammen aus der Menge des im Nährboden enthaltenen erstarrungsfähigen Materials und der Temperatur, bei welcher der Nährboden gehalten wird. Für die geringprozentige Gelatine haben Rosenthal und Klie hierauf schon hingewiesen. Für die Harngelatine ist es das Verdienst Piorkowskis, die Temperatur von 22° als Optimum für Güte der entstehenden Kolonien und Schnelligkeit ihrer Entwicklung energisch betont zu haben. Leider ist ein Thermostat, namentlich im Sommer, nur schwer auf dieser Temperatur zu halten; bei einem geringen Überschreiten dieser Temperatur aber ist man der Gefahr ausgesetzt, bei der Besichtigung sämtliche Platten verflüssigt vorzufinden. So ist es denn dringend wünschenswert (Weil), über einen Nährboden zu verfügen, der von Temperaturschwankungen nicht so abhängig ist, oder aber für das Bebrüten einer Temperatur angepafst ist, welche vom Thermostaten leicht innezuhalten ist. Aus verschiedenen äufseren Gründen erscheint die Temperatur von 37° C. als die bei weitem geeignetste.

Der Versuch, einer hochprozentigen Gelatine durch geringen Agarzusatz einen hohen Schmelzpunkt zu verleihen, mifslang; die 20 proz. Gelatine mit 0,3% Agarzusatz wurde bei 35—36° völlig verflüssigt. Es entspricht dies etwa der Konzentration des

oben citierten Stroddartschen Nährbodens, der mit 0,5% Agar und 5% Gelatine bei 35° gerade noch fest sein sollte. Wenn auch anzunehmen ist, dafs die Ausbreitung der Bakterien über die Platte hauptsächlich in dem reichlichen Kondenswasser erfolgte, so ist doch nicht von der Hand zu weisen, dafs selbst in einem etwas konzentrierteren Nährboden stark bewegliche Bakterien (Fluorescens, Pyocyaneus, Proteus) sich streckenweise in die Umgebung fortzubewegen im stande sind.

Die grofse Weichheit des Nährbodens, die für eine ausgiebige Auffaserung und Fadenbildung notwendig ist, ermöglicht auch das Ausschwärmen der beweglichen Arten und die Bildung von Tochterkolonien, wodurch ein exaktes, sicheres Abimpfen der Typhuskolonien in Frage gestellt wird und bedroht die Güte des Nährbodens so von der einen Seite, während im Gegensatz hierzu die zu hoch getriebene Konzentration das Hineinwachsen der Ausläufer in den Nährboden verhindert. Immerhin liegt zwischen dieser Scylla und Charybdis eine genügende Breite, die es gestattet, mit einiger Präcision einen Festigkeitsgrad zu treffen, der den Anforderungen genügt.

Geringprozentiger Agar für sich allein erwies sich als ungeeignet; denn wenn der Agarnährboden so wenig concentriert ist, dafs er die Fadenbildung im Innern ungestört zuläfst, prefst er grofse Massen von Kondenswasser aus, die den Nährboden, der wegen seiner geringen Kohärens nicht gestürzt werden kann, völlig überschwemmen und von beweglichen Bakterien diffus getrübt werden. Auf der anderen Seite hat Agar den grofsen Vorzug, von peptonisierenden Bakterien nicht verflüssigt zu werden. Daher wurde versucht unter Beibehalten des Agars als wesentliches Festigungsmittel des Nährbodens, sein Kondenswasser durch einen nicht zu geringen Zusatz von hochprozentiger Gelatine aufzusaugen, resp. durch den Gelatinezusatz das Auspressen des Kondenswassers zu verhindern. Es ist angängig den Prozentsatz an Agar einigermafsen zu steigern, da seine kleinsten Teilchen durch die zwischengelagerte schmelzende Gelatine auseinandergedrängt werden und sein Gefüge sich dadurch lockert.

Auf einem derart hergestellten Harngelatineagar bildete der Typhus polymorphe, bisweilen runde, meist aber unscharf, mit circulärer Haarzeichnung umgrenzte Kolonien, mit leicht gekörntem, aber doch eine feine Härchenzeichnung erkennen lassendem Centrum, von dem aus verschieden lange, zum grofsen Teil fein gewellte Haare ausgehen. An den meisten Kolonien lassen sich einzelne besonders lange, den Durchmesser des Centrums um das 3—4 fache übertreffende gewellte Härchen feststellen.

Für den Konzentrationsgrad an Agar ergab sich 0,8% als untere, 1,3% als obere Grenze. Als Optimum erwies sich 0,9 bis 1,0%. Der Gelatinezusatz betrug stets 10—13%.

Diesen Verhältnissen kommt einigermafsen nahe der Hifssche Nährboden. Seine Erfolge beruhen auf dem Zusatz von wenigstens 2% Normalsalzsäure, entsprechend 0,18% Acidität auf Milchsäure berechnet. Dieser Säuregrad ist noch keineswegs das Maximum, bis zu dem der Typhusbacillus wächst. Lehmann und Neumann geben für das intensivste Wachstum des Typhusbacillus eine Zugabe von 20 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure zu 100 ccm phenolphthaleïn-neutralen Nährbodens an. Rambusek[1]) konnte als obere Grenze des Typhuswachstums 0,45% Milchsäureacidität feststellen. Allerdings ist zuzugeben, dafs Salzsäure im allgemeinen auf das Bakterienleben einen schädigenderen Einflufs ausübt als Milchsäure und daher die 2 proz. Normal-H Cl nicht dem berechneten Quantum von 0,18% Milchsäureacidität, sondern einem höheren entspricht, und dafs andrerseits die obere Aciditätsgrenze von 0,45 proz. Milchsäure für Salzsäure herabgesetzt werden mufste. Der Agargehalt von 2% ist entschieden zu hoch, der Gehalt von nur 5 proz. Gelatine zu gering, als dafs man annehmen könnte, dafs durch Schmelzen derselben bei 37° der Agar so weit erweicht würde, dafs sich mit Sicherheit eine gute Ausläuferbildung erwarten liefse.

Nachdem der Gehalt an Agar und Gelatine fixiert war, galt es, die Zusatzstoffe zu bestimmen. Für das Kochsalz war

---

1) Archiv f. Hygiene, 1900.

der Prozentsatz von <1 bereits als der geeignetste ermittelt. Für den Harnstoff erwies sich 2,5 % als am vorteilhaftesten.

Der Harnstoff ist ein zwar konstant zusammengesetzter aber sehr labiler chemischer Körper. Seine Zersetzung beginnt bei 65°, steigert sich bei 100° und wird rapide bei Atmosphärenüberdruck. Auch Haiaschikawa machte darauf aufmerksam, dafs die Schwankungen in der Schlufsreaktion bei der Harngelatine wohl auf die Zersetzung des Harnstoffes zurückzuführen sind.

Wie grofs der Harnstoffzerfall sei, zumal bei Agar, wobei der Harn ja besonders lange gekocht werden mufs, ist aus den Versuchen Brodmeiers[1]) zu ersehen. Er fand, dafs beim Sterilisieren im Dampftopf bei 100° die Zerlegung des Harnstoffs eine ganz gleichmäfsige bleibt; dafs aber im Brutschrank eine weitere Zersetzung der sterilen Lösung nicht stattfindet. Es wurden bei 100° von 1 proz. Lösung in 25 Minuten 11,04% zersetzt; von 5 proz. Lösung in 20 Minuten 11,66 %.

Es findet beim Kochen und Sterilisieren des Nährbodens aus Harn ein erheblicher, von der Herstellungsweise abhängiger und nur sehr unvollständig kontrollierbarer Verlust an Harnstoff statt; und das hierbei entstehende Ammoniak mufste dem Nährboden zu einer beträchtlichen basischen Reaktion verhelfen. Die starke Alteration des Harnstoffes erfordert es daher, den Nährboden unter den möglichsten Vorsichtsmafsregeln herzustellen und weiter zu verarbeiten. Die besten Resultate wurden mit einem Harnstoffgehalt von 2,5 % gewonnen, der erst unmittelbar vor dem Füllen in Röhrchen dem Nährboden zugesetzt wurde.

Von grofser Wichtigkeit für das Gelingen des Nährbodens war die Regulierung seines Säuregrades. Es zeigte sich, dafs nur innerhalb einer nicht sehr ausgedehnten Reaktionsbreite die Kolonien sich typisch ausbilden. Es ist infolgedessen dringend erforderlich, den Nährboden genau auszutitrieren. Die Titrationen wurden mit frisch bezogener und stets frisch aufgefüllter $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge stets heifs bei 60—70° vorgenommen, die Probe mit gekochtem heifsem destillierten Wasser stark

1) Centralbl. f. Bakt., XVIII, S. 380.

verdünnt und der Beginn des Umschlags in die Rotfärbung als Neutralpunkt angenommen. Es ergab sich dabei als untere Grenze für das Zustandekommen der typischen Typhuskolonien 0,1—0,63 % Acidität, auf Milchsäure berechnet = etwa 1,5 Laugedefizit. Obere Grenze war 0,4—0,45 % Milchsäureacidität = 4,4 bis 4,95 Laugedefizit. Das Optimum lag zwischen 0,25 und 0,3 % Milchsäureacidität = 2,75—3,3 Laugedefizit.

Die Herstellung des Nährbodens wurde folgendermaſsen bewerkstelligt: Als Ausgangsmaterial diente I. gewöhnlicher 3 proz. Peptonfleischwasseragar; II. gewöhnliche 20 proz. Peptonfleischwassergelatine, beide mit einem Kochsalzgehalt von 0,7—0,8 %, ohne Korrektur der Reaktion; nach dem Filtrieren auf das ursprüngliche Flüssigkeitsmaſs aufgefüllt.

1 Teil Agar und 2 Teile Gelatine werden im vorher mit heiſsem Wasser erhitzten Maſscylinder abgemessen und in einem Kolben zusammengegossen, gut durchgeschüttelt und während der Titration dauernd auf dem Wasserbade von 70—80° flüssig erhalten. Sodann wird durch genaue Titration, thunlichst bei Tageslicht, der Säuregrad festgestellt und nach der Berechnung die Reaktion mit Normalnatronlauge resp. Normalmilchsäure bis zu etwa 0,27—0,3 % Milchsäureacidität = 2,97—3,3 Normallaugedefizit (auf 100 ccm) korrigiert, nach der Zugabe noch einmal titriert und eventuell eine Schluſsverbesserung hinzugefügt. Alsdann setzt man 2,5 % in möglichst wenig Wasser gelösten und filtrierten reinen Harnstoffs hinzu und füllt, während der groſse Kolben weiter auf dem heiſsen Wasserbade verbleibt, in sterilisierte Röhrchen ein. Würde man den Gelatineagar vom Wasserbade herunternehmen, so liefe man Gefahr, bei Schluſs des Abfüllens durch Abscheiden von Agarklümpchen einen ungleichmäſsig zusammengesetzten Nährboden zu erhalten. Es genügt einmalige Sterilisation im strömenden Dampf von 15 Minuten. Nun wählt man aus der Mitte und vom Rande des Sterilisierbehälters einige Röhrchen aus, gieſst ihren Inhalt zusammen und titriert zur Probe noch aus. Bei dieser Endtitration findet man, daſs der Nährboden nicht den nach dem Brodmeierschen Zersetzungscoefficienten aus dem entstehenden NH_3 heraus-

zurechnenden sehr bedeutenden Rückschlag in der Acidität erfahren hat, sondern einen ganz geringen bis etwa 0,04 Ms. ac.

Für den Anfang empfiehlt es sich, nur wenig Nährboden auf einmal zu bereiten, etwa 300 g, und ihn mit der Pipette zu je 10 ccm genau in Röhrchen zu bringen. Man ist dann leicht im stande, durch Hinzufügen von $^1/_{10}$-Normal-NaOH oder Milchsäure aus der Bürette die vielleicht verfehlte Reaktion nachträglich richtig zu stellen; auch ist es sehr angezeigt, bei Beginn des Arbeitens mit dem Nährboden, womöglich durch Besäen mit mehreren Typhusstämmen, den Nährboden auf Wachstum zu prüfen.

Von dem fertiggestellten Nährboden verflüssigt man zum Gebrauch eine Anzahl von Röhrchen am schonendsten wegen des Harnwasserstoffgehaltes dadurch, dafs man sie auf 2—3 Minuten in bereits kochendes Wasser bringt. Nach dieser Zeit überträgt man sie in Wasser von 45° und giefst in der üblichen Weise Platten, die man im Eisschrank oder bei Zimmertemperatur erstarren läfst und in den bei 35—37° gehaltenen Brutschrank stellt. Nach 12—24 Stunden, im Mittel nach 15 Stunden, erscheinen dann die typischen Kolonien.

Typhus und Coli unterscheiden sich in diesem Nährboden

1. durch die Gestalt der Kolonien,
2. die Gröfse und
3. die Farbe.

Die Typhuskolonie hat einen rundlichen, teilweise polymorphen, zarten Kern, von dem aus nach allen Seiten zahlreiche, sehr dünne, teils gerade, teils gebogene, nicht selten excessiv lange und dann schraubenzieherförmig gewundene Ausläufer ausgehen. Auch an dem Kern kann man, namentlich an seinen Randpartien, eine feine, knäuelartige Härchenzeichnung unterscheiden. Die Farbe der Kolonie ist ein durchschimmerndes Grau. Nur wenn die Kolonie gröfser ist, geht die Farbe allmählich in einen bräunlichen Ton über. Die Gröfse der Kolonie ist verschieden, ebenso die Wachstumsgeschwindigkeit. Bei gut gelungenem Nährboden sind die Kolonien nach 14—15 Stunden mit blofsem Auge wahrzunehmen, und bei schwacher Vergröfserung, eventuell auch ohne diese, unschwer abzuimpfen. Die

Ausläufer sind jedoch nur mit etwa 80—100 facher Vergröfserung gut zu erkennen.

Harnstoffgehalt und Säuregrad stehen zu einander in einem gewissen Unterstützungsverhältnis, so zwar, dafs, je höher man den Säuregrad wählt, um so zahlreicher werden im allgemeinen die Ausläufer, um so kleiner aber bleiben die Kolonien und um so später daher erst werden sie sichtbar und zum Abimpfen geeignet. Es empfiehlt sich daher für die Praxis, dem Nährboden nur einen mittleren Säuregrad zu erteilen (0,25—0,3 Ms. ac.), da die hiermit erzielten Kolonien immer noch hinreichend charakteristisch sind. Auch mufs erwähnt werden, dafs verschiedene Typhusstämme auf den Säuregrad des Nährbodens verschieden reagieren. So zeigte der eine Typhusstamm bereits nach 13 Stunden grofse, mit blofsem Auge leicht wahrnehmbare, charakteristische Kolonien, während die des empfindlichsten Stammes erst nach etwa 20 Stunden annähernd so deutlich wurden. Die Steigerung des Harnstoffgehaltes bewirkt eine Verkümmerung der Ausläufer, die an Zartheit einbüfsen und mit kleinen, knötchenartigen Exkrescenzen besetzt werden.

Wenn Typhuskolonien schnell treiben, so sind sie im allgemeinen nicht so charakteristisch, als bei langsamem Wachstum. Sie verlieren etwas an Zartheit, entsprechend ihrer weit gediehenen Ausbildung, und werden stärker granuliert; dabei sind sie in der Regel rund und nicht polymorph und haben vom Rande wenigstens eine Reihe kurzer Härchen ausgehend, bisweilen nur vereinzelte, dann aber längere und eventuell schraubenzieherförmig gewundene.

Die normale Colikolonie hat einen runden, teils polymorphen, grobgekörnten, kompakten Kern. Ihn umgibt meist eine mehr oder weniger ausgedehnte Zone glassplitterchenartiger Körner, die sich nicht selten zu zahlreichen kleinen abgesprengten Tochterkolonien entwickeln. Die Gröfse der Kolonien ist, wie bei Typhus, bedeutenden Schwankungen unterworfen, immerhin sind die Colikolonien stets zu viel gröfserem Umfange gediehen als die unter gleichen Bedingungen gewachsenen des Typhus. Wie durch die Gröfse, so unterscheidet sich die Colikolonie auch wirkungsvoll durch ihre meist dunkelbraungelbe Farbe, die ihr

im Vergleich zu dem zarten, hellgrauen, transparenten Typhus das Bild des Kompakten und Massigen gibt.

Diese kompakte, dunkelgefärbte Fugung sichert auch dann die Diagnose, wenn die Colikolonie ausnahmsweise Ausläufer hat, zumal diese stets nur vereinzelt und ganz kurz im Vergleich zum Durchmesser der Kolonie sind.

Sämtliche vorstehend beschriebenen Kolonien sind Tiefenkolonien. Dafs die oberflächlichen Kolonien ebenso wie die tiefliegenden die charakteristischen Ausläuferbildungen aufweisen, wie zuerst Klie und nach ihm noch eine Reihe von Beobachtern angeben, mufs ganz entschieden in Abrede gestellt werden. Es hat dies weder auf dem reinen Gelatinenährboden noch auf dem mit Agarzusatz bereiteten statt. Es sind vielmehr lediglich die tiefliegenden, allseitig vom Nährboden umgebenen Kolonien charakteristisch und für die Diagnose verwertbar. Die oberflächlichen entwickeln sich wie die auf gewöhnlicher Gelatine gewachsenen; in ähnlicher Weise die auf der Trennungsfläche zwischen Nährboden und Glas entstandenen. An manchen Kolonien ist man daher in der Lage, einen in der Tiefe liegenden ausgefaserten charakteristischen und einen an der Oberfläche liegenden nicht charakteristischen Abschnitt zu unterscheiden.

Wie beim geringprozentigen Harngelatinenährboden, so ist es auch beim Harnstoffgelatineagar dringend geboten, nur nach angestellter Blutserumreaktion die Diagnose Typhus zu stellen. Wenn es auch im allgemeinen gelingt, den gegen Coli Typhus zu unterscheiden, so bildeten doch absolut typhusartige Kolonien: der Ruhrbacillus Kruse, und ein mäfsig dickes, langes, zu Fäden auswachsendes, nach Gram positives, die Gelatine langsam verflüssigendes obligat aerobes Stäbchen.

Die anderen geprüften Bakterien, Kartoffelbacillus, Heubacillus, Proteus, Zopfii, Milzbrand u. s. w., entwickelten sich gänzlich anders. Zu erwähnen ist, dafs auf Zusatz von 1 % Traubenzucker zu Harnstoff-Gelatineagar Streptokokken ähnliche Kulturen bildeten.

Von anderen Zusätzen wurden noch geprüft: Milchzucker und Glycerin, und zwar in der Absicht, den Typhus etwas

schneller zur Entwicklung zu bringen und seine Kolonien ein wenig zu vergröfsern. Es hat auch den Anschein, als ob die beiden Zuckerarten bei den Reinkulturplatten dies zu Wege brächten, aber sie haben beide den Nachteil, das Bact. Coli zu lebhafter Säureproduktion anzuregen, welche die in der Nähe liegenden Typhuskolonien nicht unbeträchtlich in der Entwicklung hemmt. Für den Traubenzucker besteht noch der Nachteil, dafs er die in den Fäces reichlich vorhandenen Streptokokken zu Ta-ähnlichen Kolonien aufgehen läfst. Ganz zu verwerfen ist das Glycerin, welches die Fadenbildung direkt verhindert.

Vermittelst des Harnstoff-Gelatineagars gelang es, sowohl aus zahlreichen Typhus- und Colimischungen, wobei stets lebhaft bewegliche Coliarten benutzt wurden, als auch aus künstlich mit Typhus inficierten Stühlen und auch aus einem natürlichen Typhusrekonvalescentenstuhl den Typhus sicher herauszuzüchten.

Es erübrigt, die Methode der Typhusreinzüchtung vermittelst dieses Nährbodens kurz zu streifen.

Da nur die tiefen Kolonien für die Diagnose verwertbar sind, empfiehlt es sich, die Röhrchen recht hoch zu füllen, damit viel Nährboden und damit auch eine möglichst reichliche Zahl von isolierten Kolonien zur Auswahl zur Verfügung steht. In der oben erörterten Art werden die Röhrchen mit dem Untersuchungsmaterial beimpft, zum Erstarren gebracht und im Thermostaten bei 35—37 ° C. etwa 15 Stunden bebrütet. Sodann werden die Platten, nachdem sie, eventuell mit Hilfe des Eisschrankes, vollkommen erstarrt sind, besichtigt und verdächtige Kolonien in 1—2 ccm Bouillon abgeimpft.

Bieten sich nur typhusverdächtige Kolonien in unmittelbarer Umgebung von Coli, so dürfte es gut sein, die abgestochene Kolonie gleich von neuem auf einer Platte auszusäen. Nach 6—8 Stunden, je nachdem die Röhrchen gewachsen sind, macht man mit Typhustestserum die Agglutinationsreaktion; gleichzeitig beimpft man ein Gärkölbchen.

Die eingetretene Agglutination beweist, dafs in der vorliegenden Kultur Typhusbacillen vorhanden sind. Das Gärkölbchen, wenn es in beiden Schenkeln getrübt ist, ohne Gas

gebildet zu haben, macht es sehr wahrscheinlich, dafs die abgeimpfte Kolonie Typhus in Reinkultur ist.

Zum Schlufs sei es gestattet, das Wesen des Typhusnährbodens noch einmal kurz zusammenzufassen.

Um den Typhusbacillus zur Bildung charakteristischer Kolonien zu veranlassen, benutzt man seine Eigenschaft schon auf geringfügige schädigende Momente hin, Involutionsformen in der Gestalt langer, dicker fädiger Gebilde zu erzeugen. Damit die gebildeten Fäden sich nach allen Seiten hin ausdehnen können, ist es erforderlich, dafs der Nährboden eine weiche, von der Wachstumsenergie der Ausläufer leicht zu überwindende Konsistenz besitzt. Der erstsn Bedingung wird am besten genügt durch Zusatz von 2,5 % Harnstoff zum Nährboden und Herstellen einer Reaktion von 0,3 % Milchsäureacidität, d. h. es müssen 3,3 ccm Normalnatronlauge erforderlich sein, um 100 ccm Nährboden zu neutralisieren. Der zweiten Bedingung entspricht ein Agargelatinegemisch mit 1 % Agar und 13 % Gelatine, welches bis 37 ° C. gerade so weich ist, dafs es den Ausläufern der Typhuskolonie ungehinderte Ausbreitung gestattet, während es ein weitgehendes störendes Ausschwärmen der beweglichen Bakterien verhindert. Die Colikolonien erhalten hierbei durch den glassplitterchenartigen Hof ihrerseits auch ein besonders charakteristisches Gepräge.

Während man auf die Kürze der Zeit, die zu Entwicklung der Kolonien nötig ist, kein zu grofses Gewicht legen darf, da es im allgemeinen wohl gleichgültig ist, ob eine Typhusdiagnose in 24 oder 48 Stunden gestellt wird, ist als nicht zu unterschätzender Vorzug des Nährbodens hervorzuheben: seine relativ konstante, gleichmäfsige Zusammensetzung, seine leichtere Handhabung, da er auf Bruttemperatur (37 ° C.) eingestellt ist, und der Umstand, dafs er selbst durch die stärkst peptonisierenden Bakterien nur nach langer Zeit in ganz geringem Grade verflüssigt wird. Dieser letzte Punkt kommt vor allem in Frage für die Züchtung des Typhusbacillus aus Wasser, die nach Ansicht des Verfassers vor allem durch besondere Methoden und Nährböden wie der vorliegende erleichtert und gesichert werden mufs; ist

doch die Gruber-Widasche Serumreaktion in Verbindung mit der klinischen Diagnose in den meisten Fällen ausreichend zur Erkennung der Typhuserkrankung.

Indes ist die Auffindung des Typhuskeims im Stuhl doch eine wichtige Angelegenheit, die ich durch vorstehende Arbeit erleichtert zu haben hoffe.

Vor allem dürfte es interessant sein, den Termin des frühesten Auftretens des Typhusbacillus im Stuhl beim Kranken festzustellen. Von hoher epidemiologischer Bedeutung ist der Nachweis seines Vorhandenseins in den Fäces solcher Gesunder, welche in der Umgebung Erkrankter leben, und ebenso behufs Desinfektion der Stühle, die Dauer der Anwesenheit der Typhuskeime im Stuhl der Erkrankten und Rekonvalescenten zu konstatieren.

Herrn Professor Wernicke, meinem hochverehrten Chef, sei es mir verstattet, für die Anregung zu dieser Arbeit, seinen stets bereiten liebenswürdigen Rat und die Durchsicht des Manuskripts an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Figurenerklärung.

Die Figuren wurden sämtlich bei Vergröſserung $^1/_{100}$, möglichst der Natur entsprechend und ohne zu schematisieren, gezeichnet; Figur 7 entspricht nur einem Äquatorialschnitt durch die betreffende Kolonie.

Es stellen dar:

I. a) Typhusartige Colikolonie. b) u. c) Typhuskolonie. 24 Stunden bei 21,5° auf neutraler $3^1/_2$ proz. Harngelatine.

II. a) Oberflächliche, b) tiefe Typhuskolonie. 60 Stunden bei 21—22° auf neutraler $3^1/_2$ proz. Harngelatine.

III. Typhus-K. Auf Milchzucker-Harnstoff-Gelatine-Agar von 0,308 °/₀ Milchsäure-Acidität, etwa 15 Stunden alt.

IV. Typhus-K. Auf Milchzucker-Harnstoff-Gelatine-Agar von 0,32 °/₀ Milchsäure-Acidität. 14 Stunden alt.

V. a) Versprengte, b) runde Colikolonie von derselben Platte. Milchzucker-Harnstoff-Gelat.-Agar von 0,31 °/₀ Milchsäure-Acidität. 15 Std.

VI. a) Normale, mit glassplitterchenartigem Hof versehene Colikolonie, b) Colikolonie mit besonders zahlreichen und besonders langen Ausläufern. Harnstoff-Gelatine-Agar. 15 Stunden.

VII. Colikolonie mit abgesprengten Tochterkolonien. Milchzucker-Harnstoff-Gelatine-Agar. 0,31 °/₀ Milchsäure-Acidität. 15stündig.

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG WIEN LEIPZIG BERLIN.

VIERUNDVIERZIGSTER BAND. 2. HEFT.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1902.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Über die Bedeutung der Cigarren und besonders der Stummel derselben im Hinblick auf die Verbreitung der Tuberkulose. Experimental-Untersuchungen von Dr. Luigi Peserico, Assistent. (Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Padua. Unter Leitung des Prof. A. Serafini.)

Besitzen die flüchtigen Bestandteile von Thee und Kaffee eine Wirkung auf die Respiration des Menschen? Von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. Georg Rohrer aus Spokane (U. S. A.). (Referent: Prof. Dr. K. B. Lehmann.) (Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. X. Neue Studien über die Acidität des Brotes, ihre Ursachen und ihre beste Bestimmungsmethode. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann. (Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. XI. Über die Bedeutung der Schälung und Zermahlung des Getreides für die Ausnutzung (Avedyk- und Steinmetzverfahren). Nebst einigen Versuchen über die Bedeutung des Weizenmehlzusatzes zum Roggenbrot. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann. (Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Einsendungen beliebe man an **Prof. Rubner, Berlin C., Klosterstr. 36,** *zu richten.*

Über die baktericide Wirkung der Seifen.

Vom

Assistenten Dr. **Dániel Konrádi.**

(Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ung. Franz-Joseph-Universität in Kolozsvár. Direktor: Dr. Joseph v. Löte, o. ö. Professor.)

Mit der baktericiden Wirkung der Seifen beschäftigte sich zuerst R. Koch[1]) im Jahre 1881. Auf Seite 271 seiner Arbeit »Über Desinfektion« sagt R. Koch: »dafs Kaliseife bei 1:5000 schon eine Behinderung und bei 1:1000 vollständige Aufhebung der Entwicklung bewirkt«. Nach Kuisl[2]) entwickeln sich die Typhusbacillen in 2%, die Choleraspirillen in 5% Kaliseife enthaltenden Nährsubstraten sehr gut, und nicht einmal in 10proz. Lösungen ist die Kaliseife im Stande, das Fleisch vor Fäulnis zu hüten, weshalb Kuisl die Kaliseife aus der Reihe der Desinficientien streicht.

Di Mattei[3]) fand die Choleraspirillen innerhalb einiger Minuten und 27 Stunden getötet, in einer mit Seife gemischten Bouillon, die Typhusbacillen lebten aber nach 4, die Eiterkokken nach 8 Tagen weiter.

Im Jahre 1890 untersuchte Behring[4]) ungefähr 40 verschiedene Seifensorten und bestätigte, dafs eine »feste Waschseife Milzbrandbacillen in Bouillonkultur noch in Zeit von 2 Stunden abtötete, wenn ein Teil dieser Seife in 70 Teilen Bouillon aufgelöst war«.

Im Jahre 1892 untersucht im Högyesschen Institute Szana[5]) die desinfizierende Wirkung der gewöhnlichen Wasch-, Glycerin- und Moschusseife und findet gar keine Desinfektionsleistung gegen Choleraspirillen, Staphylococc. pyog. aur., Friedländersche und Typhusbacillen; mischte Szana aber die Seife im Verhältnisse 1:10 der Milzbrandbouillonkultur, so war dieselbe in einigen Minuten steril.

Über bedeutend gröfsere Wirkung berichtet im Jahre 1893 Nyland[6]). Nyland prüfte nämlich eine weifse Waschseife (Natronseife), eine grüne Kaliseife und einen nach dem niederländischen Arzneibuche verfertigten Sapo medicatus. Aus diesen Versuchen folgt, dafs eine 2,4 ‰ Lösung der grünen Kaliseife in 10 Minuten, eine ebensolche von Sapo med. in 15 Minuten, hingegen eine 3 ‰ Lösung der weifsen Waschseife in 1 Minute die Choleraspirillen tötet. Nyland untersuchte auch eine 1 ‰ Sublimatum enthaltende Seife, deren 1,2 ‰ Lösung die Choleraspirillen sofort tötete, bestägtigte aber zugleich, dafs das Sublimatum allein eine viel gröfsere Wirkung habe, als mit der Seife gemischt.

Im selben Jahre untersuchte Jolles[7]) die Wirkung der Kali-, Kalilysol-, Glycerin-, Ledatoilette- und Rasierseife gegen Choleraspirillen, wo Jolles bestätigen konnte, dafs die verschiedenen Seifen unter denselben Bedingungen (Temperatur, Zeitdauer, gleiche Konzentration) beinahe gleiche Wirkung ausüben; alle fünf von Jolles untersuchten Seifen töteten nämlich in einer 8—9proz. Lösung die Choleraspirillen binnen 1—2 Minuten bei Zimmertemperatur, in einer 3proz. in 10 Minuten, in einer 1proz. innerhalb 30 Minuten, aber eine 0,1proz. Lösung dieser Seifen tötete die Cholera-Spirillen nicht einmal in einer Zeit von 24 Stunden, selbst bei einer Temperatur von 30—40° C.

Nach diesen Beobachtungen unternahm Jolles[8]) im Jahre 1895 diese Untersuchungen noch einmal, jetzt aber nur mit einer Seife, da — wie er früher konstatieren konnte — in der antiseptischen Eigenschaft verschiedener Seifen kein Unterschied sei. Aus den neueren Versuchen erhielt Jolles folgende Resultate: 1proz. Lösung dieser Seife tötet die Typhus- und Coli-

bacillen bei einer Temperatur von 4—8° C. innerhalb 12, eine 2proz. binnen 6, eine 3proz. in 2 Stunden, eine 6—10proz. in der Zeit von 15 Minuten. Diese Untersuchungen beweisen — sagt Jolles —, »dafs den Seifenlösungen an und für sich eine bedeutende Desinfektionsfähigkeit gegen die am häufigsten vorkommenden pathogenen Mikroorganismen innewohnt«.

Im Jahre 1896 untersuchte Reithoffer[9]) die Kali-, Mandel- und eine Patentkaliseife, findet jedoch sehr bedeutende Wirkung, indem eine 1proz. Lösung binnen 5 Minuten die Choleraspirillen tötet, die Typhusbacillen tötet aber nur eine 10proz. Kaliseifenlösung und zwar in 10 Minuten; eine 5proz. Mandelseifenlösung binnen 5, eine 10proz. Patentkaliseife innerhalb 1 Minute. Den Eiterkokken gegenüber waren diese Seifen ohne den mindesten Erfolg, sogar in 18—20proz. Lösungen.

Im selben Jahre prüft Beyer[10]) die 3proz. Kaliseife gegen die Mikroben: Cholera, Typhus, Coli, Staphylococc. pyog. aur. und Bac. Diphtheriae, wobei Beyer genannte Mikroben innerhalb 48 Stunden getötet fand bei Zimmertemperatur, hingegen bei 50° C. binnen 24 Stunden.

Im Jahre 1898 beschäftigt sich Serafini[11]) sehr eingehend und mit besonderer Umsicht mit dieser Frage, ist zugleich bemüht, die Meinungsverschiedenheiten zu klären, die in dieser Frage herrschen. Im ganzen prüfte Serafini die Wirkung neunerlei Seifen gegen Choleraspirillen und gelangt zum Resultate, dafs während 1‰ Lösung dieser Seifen nicht einmal innerhalb 48 Stunden die Choleraspirillen tötet, thun dieselben das binnen 1—15 Minuten in einer 50proz. Lösung.

Im Jahre 1900 untersuchte Förster[12]) drei verschiedene Seifen gegen Hühnercholera, Bac. diphtheriae und Staphylococc. pyog. aur., findet ihre 10proz. Lösung sehr wirkungsvoll, indem er sagt: »Haben schon nach 60 Minuten, mit positiver Sicherheit aber nach 6 Stunden alle pathogenen Keime abgetötet.«

So viel und so widersprechende Resultate fand ich in der Litteratur. Wie wurden die Versuche der genannten Autoren durchgeführt? Die meisten mischten die Seifenlösungen zu den Nährsubstraten, und es ist aus ihren Mitteilungen sehr schwer

zu entnehmen, ob sie die Seifen im destillierten-, Brunnen- oder Leitungswasser lösten, sondern begnügten sich mit der Bezeichnung »in Wasser«. Diesem Umstande kann man vielleicht die Ungleichheit in den Resultaten zuschreiben, die bei den oben erwähnten Versuchen sich ergeben haben; denn es ist selbstverständlich, dafs die Seifen sich in den verschiedenen Flüssigkeiten nicht gleich lösen.

So mischte z. B. Kuisl die 1—5proz. Seifenlösung zum Peptonfleischwasser, welches dann mit Choleraspirillen eingeimpft wurde; Di Mattei gofs die Seifenlösung in die Reinkultur; bei Behring »wurde eine Auflösung der Seifen in Wasser (meist 10%) bewirkt«, die dann in Bouillon aufgelöst wurde. Szana mischte eine konzentrierte (?) Seifenlösung zur Bouillonreinkultur; Jolles gofs zu den 1—10% im sterilen destillierten Wasser gelösten Seifen Choleraspirillen in Bouillonkultur. Reithoffer mischt zu 10 ccm Peptonfleischwasser aus einer 20proz. Seifenlösung so viel, dafs die Mischung eine 0,2, 0,5, 1,0 und 2proz. sei. Serafini gibt zu 10 ccm Seifenlösung 1 ccm Bouillonkultur.

Nyland infizierte künstlich sein Badewasser mit Choleraspirillen. Dann wusch er sich mit 1‰ Sublimatseife in diesem Bade, bis der Seifengehalt des Wassers 0,146‰ war. Aus diesen Versuchen wurde bestätigt, dafs 22 g Seife die in 150 l Wasser gewesenen 113550000 Choleraspirillen innerhalb 10—15 Minuten vernichten.

Beyer mischte Choleraspirillen zu sterilen alkalischen Fäces. In diese Mischung legte er Leinwandstückchen, welche nach der Herausnahme in die Seifenlösung kamen.

Förster macht dasselbe mit seinen Mikroben, nachdem dieselben mit frischem, nicht sterilem Blute vermischt wurden.

Nunmehr gehe ich auf meine eigene Untersuchung über. Ich untersuchte eine »Resorcin«-Seife. Der Verfertiger der »Resorcin«-Seife, Joseph Heinrich, teilte mit, dafs die Seife 5% Resorcin und 2% Glycerin enthalte. Die Seife hat einen angenehmen Geruch, ist dunkelkaffeebraun, in dünnen

Schichten mit einem Stich ins grünliche, der frische Durchschnitt ist olivengrün. Sie gibt genügenden Schaum, dieser ist gleichmäſsig, feinblasig, reinigt die Haut, hält sie weich, macht sie weder trocken noch rissig, reizt die Schleimhäute nicht. Beim Wärmen löst sie sich in absolutem Alkohol und in destilliertem Wasser vollständig.

Ihre Zusammensetzung, welche teils im hiesigen hygienischen, teils im chemischen Institute bestimmt wurde, für die ich sowohl Herrn Professor v. Rigler, als auch Herrn Assistenten v. Nyiredy zum Danke verpflichtet bin, ergibt folgendes:

Gesamter Alkaligehalt	8,50 %,
Fettsäuren	47,55 %,
Wasser	18,12 %,
Freies Alkali	in Spuren.

Die Versuche wurden folgenderweise durchgeführt: In sterilem, destilliertem Wasser wurden 5 proz., 1 und 0,5 proz. Seifenlösungen hergestellt. Von diesen Lösungen wurden je ein Kubikcentimeter zu 10 ccm einer 10 proz. aufgelösten Nährbodengelatine hinzugeschüttet und diese alsdann mit Anthraxbacillen, Anthraxsporen, Typhusbacillen, Bacterium coli commune und Staphylococcus pyogen. aureus geimpft. Auſserdem wurde auch auf Gelatine geimpft, der keine Seifenlösung zugesetzt war. Das Resultat ergab, daſs auf der seifenlösungsfreien Gelatine innerhalb der entsprechenden Zeit eine Unzahl von Bakterienkolonien aufgingen, während auf der mit Seifenlösung gemischten selbst nach 14 Tagen keine einzige Kolonie sichtbar war.

Weiters wurden 0,1 ccm einer 1 ‰ Seifenlösung zu 10 ccm Gelatine und zu 1,5 proz. Agar gesetzt und dann mit den obenerwähnten Mikroben geimpft. Der Erfolg war derselbe, die Entwicklung von Mikroben wurde auch bei dieser Verdünnung der Seife (1:100000) vollkommen hintangehalten.

Ferners wurden auf die Oberfläche erstarrten Agars in drei Petrischen Schalen mittels eines in Anthraxreinkultur getauchten

Platindrahtes zwei sich im Mittelpunkte kreuzende Striche gemacht; in die Mitte von zwei Schalen wird ein Stückchen Seife gelegt, in die dritte Schale nicht. Nach einem 24 stündigen Stehen im Brutofen zeigt sich in der dritten Schale den Strichen entlang üppige Entwicklung, während in den beiden anderen Schalen bis zu 4 cm Entfernung von dem Mittelpunkte selbst nach 10 Tagen nichts zu sehen ist.

Aus den bisherigen Untersuchungen überzeugte ich mich nur davon, dafs die Seife auch in grofsen Verdünnungen, zu den Nährsubstraten gemischt, die genannten Mikroben nicht zur Entwicklung kommen läfst, aber noch nicht davon, wie viel Zeit zur vollständigen Desinfektion nötig sei.

Zur Entscheidung dieser Frage wurde auf folgende Weise vorgegangen: In sterilem destilliertem Wasser wurde aus Anthraxsporen eine Suspension hergestellt. Nachdem ich mich im hängenden Tropfen und an gefärbten Präparaten davon überzeugt hatte, dafs die Sporen gleichmäfsig verteilt sind, legte ich sterile Seidenfäden, Leinwandläppchen von 1 qcm Gröfse und Deckgläschen von 15 mm Durchmesser in die Suspension, entnahm diese Gegenstände nach einigen Minuten wieder und trocknete sie ab. Dann wurden in zwei eine 1 ‰ Seifenlösung enthaltende Schalen die in die Suspension getauchten Seidenfäden, in weitere zwei Schalen Leinwandläppchen und in zwei Schalen Deckgläser gelegt. Von den dreierlei Schalen wurde je eine bei Zimmertemperatur, je eine im Brutofen bei 37° C. gehalten. Nach einer bestimmten Zeit wurde jeder Schale ein Faden resp. ein Leinwandläppchen und ein Deckglas entnommen, in lauem, sterilem Wasser gut ausgewaschen und in Bouillon gelegt. Als Kontrolle wurde mit seifenlosen Fäden, Läppchen und Deckgläsern auf gleiche Weise vorgegangen und dann alles in den Brutschrank gestellt.

Gleichzeitig untersuchte ich aber auf gleiche Weise verfertigte Seidenfäden, Leinwandläppchen und Deckgläser die Resistenzfähigkeit derselben Sporen gegen 1 ‰ Sublimat, und zwar wurde das Sublimat teils nach der Methode Gepperts[13]) mit Schwefelammonium niedergeschlagen, teils nur mit absolutem

Alkohol und destilliertem Wasser ausgewaschen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen die folgenden zwei Tabellen:

1 ‰ Sublimat.

Zeit	Auf Seidenfäden getrocknete Sporen		Auf Leinwandläppchen getrocknete Sporen		Auf Deckgläschen getrocknete Sporen		Kontrolle	Bemerkung
	Schwefel-Ammon.	Alkohol und Wasser	Schwefel-Ammon.	Alkohol und Wasser	Schwefel-Ammon.	Alkohol und Wasser		
5 Min.	+	Spätet mit 48 Stunden	+	Spätet mit 48 Stunden	+	+	+	+ = Kultur geht auf
10 »	+	mit 4×24 St.	+	—	+	+	+	
15 »	+	—	+	—	+	+	+	— = geht selbst nach 1 Monat nicht auf
30 »	+	—	+	—	+	+	+	
35 »	+	—	+	—	+	+	+	
1 St.	—	—	—	—	—	—	+	

1 ‰ Resorcin-Seife.

Zeit	Auf Seidenfäden getrocknete Sporen		Auf Leinwandläppchen getrocknete Sporen		Auf Deckgläschen getrocknete Sporen		Kontrolle	Bemerkung
	Bei Zimmertemp.	Im Brutschrank	Bei Zimmertemp.	Im Brutschrank	Bei Zimmertemp.	Im Brutschrank		
15 Min.	+	+	+	+	+	+	+	+ = Kultur geht auf
30 »	+	+	+	—	+	+	+	— = geht selbst nach 1 Monat nicht auf
1 St.	+	—	+	—	+	+	+	
2 »	+	—	+	—	+	+	+	
3 »	+	—	+	—	+	+	+	
4 »	+	—	+	—	+	—	+	
5 »	+	—	+	—	+	—	+	
6 »	+	—	—	—	+	—	+	
7 »	—	—	—	—	+	—	+	
8 »	—	—	—	—	+	—	+	
21 »	—	—	—	—	+	—	+	
24 »	—	—	—	—	—	—	+	

Aus den vorstehenden Tabellen ist ersichtlich, daſs die nämlichen Anthraxsporen unter denselben Bedingungen sich in verschiedener Zeit zu entwickeln beginnen, je nachdem sie auf Seidenfäden, Leinwandläppchen oder Deckgläsern angetrocknet

sind. Es ist schwer glaublich, dafs die Ursache dieser Thatsache darin zu suchen ist, dafs die Individuen ein und derselben Reinkultur eine ganz verschiedenartige Widerstandsfähigkeit besitzen — wie dies Geppert meint — und inwiefern wir verschiedene Erfolge finden, ist dies eher dem zuzuschreiben, dafs man das Desinfektionsmittel aus dem Medium, in welchem die Sporen sich befinden, nicht vollständig beseitigen kann, und so bleibt immer eine minimale Menge, welche die Entwicklung auf kürzere oder längere Zeit beeinflufst. Weiters ist aus den Tabellen ersichtlich, dafs das Desinfektionsmittel am besten von den Deckgläsern, weniger gut von den Seidenfäden und der Leinwand zu entfernen ist; endlich, dafs solche Anthraxsporen, die durch 1‰ Sublimat innerhalb einer Stunde getötet werden, durch die Resorcinseife in gleicher Verdünnung bei Körpertemperatur in 4 Stunden, bei Zimmertemperatur aber in 24 Stunden abgetötet werden.

Es könnte jemand behaupten, dafs die auf solche Art erfolgten Untersuchungen, nämlich auf Reinkulturen und gleichmäfsig verteilten Sporen den Wert eines Desinfektionsmittels zu beobachten, nicht für das alltägliche Leben berechtigt sind, weil wir hier nicht mit Reinkulturen zu thun haben, denn die verschiedenen Bakterien sind im Eiter, Blute etc. verborgen, in welche die Desinficientien schwer eindringen und die Bakterien weiter fortpflanzen können.

Um daher den Desinfektionswert der Seife ganz den praktischen Verhältnissen angepafst zu bestimmen, zerrieb ich während der Sektion von an Milzbrand umgestandenen Tieren Milz und Leber derselben zwischen den Händen. Dann wusch ich die eine Hand in sterilem destilliertem Wasser ohne Seife, die andere mit Resorcinseife. Von beiden Wassersorten wurde je 1 ccm in Petrische Schalen auf Agar gebracht, und während in der einen Schale binnen 24 Stunden eine Unmasse von Anthraxkolonien aufging, entstand in der anderen Schale mit seifigem Wasser, selbst nach zwei Wochen nicht eine einzige Kolonie.

Ich habe auch versucht, die Milz einer an Milzbrand umgestandenen weifsen Maus in eine 1‰ Seifenlösung zu legen, davon zeitweise je ein Stückchen mit steriler Schere ausgeschnitten, mit lauem, destilliertem Wasser ausgewaschen und dann in Bouillon gelegt. Aus diesem Versuche kam ich zu dem Schlusse, dafs nach sieben Stunden aus der Milz gar keine Bacillen mehr aufgingen.

Um mich davon zu überzeugen, welchem Bestandteile der Resorcinseife diese ziemlich bedeutende desinfizierende Wirkung zukommt, stellte ich aus destilliertem Wasser eine Lösung her, die 5% Resorcin, 2% Glycerin enthielt, und wiederholte mit einer 1‰ Verdünnung dieser Lösung die oben beschriebenen Versuche ohne den geringsten Erfolg. Es müssen demnach andere Bestandteile der Seife die desinfizierende Wirkung entfalten. In der Resorcinseife befinden sich nach Angabe des Verfertigers geringe Mengen — das Verhältnis weigert sich Verfertiger anzugeben — von Terpineol, Vanilin, Cumarin und Heliotropin. Diese Bestandteile untersuchte ich sowohl einzeln als auch vermischt. Wurde von irgend einer dieser wässerigen Lösungen eine minimale Menge zu 10 ccm, mit Anthraxsporen geimpftem Agar gethan, so entwickelten sich selbst nach zwei Wochen im Brutschranke keinerlei Kolonien. Vom Terpineol genügt ein kleiner Tropfen, zu 10 ccm Gelatine gemischt, zur vollkommenen Hintanhaltung der Entwicklung von Anthraxkulturen. Auf ähnliche Weise untersuchte ich noch andere Heinrichsche, sowie sonstige im Handel vorkommende Seifen, von letzteren die Szegediner-, Eierdotter- und Glycerinseife, dann die Heinrichsche Schwefelseife, 10proz. Kreolin-, 1‰ Sublimat-, Jodkali-, Mineral-, Hygiea- und Fliederseife.

Diejenigen der Seifen, denen die oben erwähnten odorierenden Substanzen beigesetzt sind, desinfizieren vollkommen, die Mineral- und Hygieaseife minder gut, während der Flieder-, Szegediner-

und Glycerinseife gar keine desinfizierende Wirkung zukommt.

Die Thatsache, dafs die desinficierende Wirkung der Seifen von den odorierenden Substanzen abhänge, war bis jetzt — wenigstens meines Wissens — unbekannt. Ja sogar die Ursache, woher die desinfizierende Wirkung der Seifen stamme, ist noch nicht eindringlich erörtert worden. R. Koch sagt zwar auf Seite 271 seiner oben erwähnten Arbeit: »Dafs gewisse Bestandteile der Kaliseife höchstwahrscheinlich die eine oder andere Fettsäure, ein ziemlich bedeutendes Behinderungsvermögen für die Entwicklung der Milzbrandbacillen besitzt«. Dies wäre aber nach Serafini nicht richtig, weil die Fettsäuren, nachdem sie mit Lauge zu Seife vereint sind, nicht mehr als Säuren wirken können. Deswegen stellte ich Versuche mit einigen Körpern dieser Reihe an, fand aber gar keine Störung in der Entwicklung weder mit Kokus- noch mit einem alten Leberthranöl, ebenso mit Lipanin und Oleinsäure.

Behring schreibt auf Seite 414 seiner Arbeit: »Überall ist bestätigt worden, dafs es nur von dem Alkaligehalt der Seifen abhängt, welchen desinfizierenden Wert dieselben (Seifen) besitzen«. Das freie Alkali ist aber in einer guten Seife so wenig, dafs es — besonders in grofsen Verdünnungen — kaum in Betracht genommen werden kann. Das freie Alkali war in den von Jolles untersuchten Seifen 0,065—0,004%, bei Beyers Seifen 0,0963%, in den Seifen Serafinis 0,062%, in meiner Seife nur in Spuren. Wir wissen ja schon seit den Untersuchungen Kitasatos[14]), dafs die Cholera-Spirillen nur dann zu Grunde gehen, wenn das Nährsubstrat 2,37‰ K und Na enthält.

Besitzt die Seifenmasse selbst bakterientötende Eigenschaften? Diese Frage wurde auch nicht beantwortet. Serafini sagt zwar: »Die Seife besitzt in jedem Falle eine eigene Desinfektionsfähigkeit«, hat aber weder die Bestandteile noch die Seifenmasse — während der Verseifung — untersucht.

Nachdem es von Interesse war, die Seifensubstanz ohne jede andere Zuthat zu untersuchen, kochte Herr Josef Heinrich die Seife in meiner Gegenwart, wodurch mir Gelegenheit

geboten wurde, in jedem Stadium der Verseifung Proben zu entnehmen (vom Kokusöl, — denn aus diesem wird die Seife verfertigt —, nach Hinzusetzen der Lauge, am Beginn der Verseifung, vor und nach Hinzusetzen des Resorcins und der odorierenden Substanzen u. s. w.). Diese Serienversuche wurden dreimal wiederholt, die das Resultat ergaben, dafs die Seife nur nach Hinzugabe der odorierenden Mitteln vollkommen desinfiziert.

Ich stellte auch einige Tierversuche an, um die Wirkung der odorierenden Substanzen auf den tierischen Organismus zu prüfen. 1 bis 10 ccm einer wässerigen Lösung dieser Substanzen subkutan oder direkt in die Vene injiziert, ist auf Kaninchen ohne den geringsten Einflufs. 5 ccm Terpineol in 200 ccm Milch gelöst und in den Magen der Kaninchen gebracht, verursacht gar keine Veränderung. Injizierte ich aber reines Terpineol in den Magen solcher Kaninchen, die vorher 24 Stunden lang gehungert hatten, fielen dieselben in einen betäubenden Zustande, es zeigte sich Verminderung in der Atemfrequenz, Cheine-Stokessche Atmung. Dieser Zustand dauerte aber nur eine Stunde, die Tiere wurden wieder munter und zeigen auch jetzt nach zehn Monaten gar kein Zeichen einer etwaigen chronischen Vergiftung.

Ich kann aus meinen Untersuchungen folgende Schlüsse ziehen: Die untersuchte »Resorcin«-Seife vereinigt alle Eigenschaften einer guten Toilettenseife in sich, sie ist ein gutes Desinfektionsmittel, die desinfizierende Wirkung ist unabhängig von dem in der Seife enthaltenen Resorcin und hängt nur von den odorierenden Bestandteilen ab, der Seifensubstanz selbst kommt keine nennenswerte desinfizierende Wirkung zu.

Litteratur.

1. R. Koch, Über Desinfektion. Mitteil. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte, I., 1881.

2. Kuisl, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien im normalen Darmtraktus. ›Ärztliches Intelligenzblatt‹, Nr. 36—37, 1885.

3. Di Mattei, Sull'azione desinfettante dei saponi comuni. Referat. Baumgartens Jahresbericht, V., 1889.

4. Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg., IX., 1890.

5. Szana Sándor, Kisérletes vizsgálatok a szappanok fertöztelenitö képességéröl. Orvosi Hetilap, Nr. 35, 1892.

6. Nyland, Über das Abtöten von Cholerabacillen in Wasser. Arch. f. Hyg., XVIII., 1893.

7. Jolles, Über die Desinfektionsfähigkeit von Seifenlösungen gegen Choleraкeime. Zeitschr. f. Hyg., XV., 1893.

8. Jolles, Weitere Untersuchungen über die Desinfektionsfähigkeit von Seifenlösungen. Zeitschr. f. Hyg., XIX., 1895.

9. Reithoffer, Über Seifen als Desinfektionsmittel. Arch. f. Hyg., XXVII., 1896.

10. Beyer, Über Wäschedesinfektion mit dreiprozentigen Schmierseifelösungen und mit Kalkwasser. Zeitschr. f. Hyg., XXII., 1896.

11. Serafini, Beitrag zum experimentellen Studium der Desinfektionsfähigkeit gewöhnlicher Waschseifen. Arch. f. Hyg., XXXIII., 1898.

12. Förster, Versuche über Wäschedesinfektion. Hygien. Rundschau, X., 1900.

13. Geppert, Zur Lehre von den Antisepticis. Berl. klin. Wochenschrift, Nr. 36—37, 1889.

14. Kitasato, Zeitschr. f. Hyg., III., 1887.

Aufser diesen benutzte ich folgende Werke:

Hirzel, Toiletten-Chemie, Leipzig, 1892.

Spirig, Der Desinfektionswert der Sozojodolpräparate nebst Bemerkungen über die Technik der Prüfung der Antiseptica. Zeitschr. f. Hyg., XIII., 1893.

Fleischvergiftung und Typhus.

Von

Prof. **E. Levy** und Dr. **Erwin Jacobsthal.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Strafsburg.)

Unter den Begriff der Fleischvergiftung fafst man zwei grofse von einander ganz verschiedene Symptomenkomplexe zusammen. Zunächst die nervöse Form, die identisch ist mit der Erkrankung, welche man früher kurzweg als Wurstvergiftung bezeichnete. Sie ist charakteristisch durch nervöse Symptome zentralen Ursprungs: Aufhören der Thätigkeit der Speicheldrüsen, infolge dessen Trockenheit der Schleimhaut des Mundes und Rachens, Schluckbeschwerden, Heiserkeit, dann Mydriasis, Diplopie, Ptosis u. s. w. Diese Affektion wird durch einen spezifischen anaëroben Mikroorganismus hervorgerufen, den sein Entdecker van Ermengem im Anschlufs an die anderweitige Bezeichnung der Wurstvergiftung als Botulismus mit dem Namen Bacillus botulinus belegt hat.

Magen-Darmsymptome treten bei der zweiten Hauptgruppe der Fleischvergiftungen der sog. gastro-intestinalen Form, in den Vordergrund. Einfache oder hämorrhagische Gastroenteritis verbunden mit Fieber, bisweilen mit Nephritis und Hautausschlägen werden hier beobachtet. Das angeschuldigte Fleisch stammt bei einem grofsen Teil dieser gastro-intestinalen Prozesse von kranken Schlachttieren; Sepsis, Pyämie und Puerperalfieber spielen dabei

eine Hauptrolle. In anderen Fällen handelt es sich um den Genufs von gefaultem oder sonstwie nach dem Schlachten unhygienisch behandeltem Fleisch. Aetiologisch kommen in erster Linie Bakterien aus der Coligruppe oder genauer ausgedrückt aus derjenigen Gruppe, die zwischen dem richtigen Coli einerseits und dem Bacillus des Abdominaltyphus anderseits stehen, in Betracht. Viel seltener dürfen wir das Bakterium Proteus anschuldigen.[1])

Die gleichzeitig auftretenden nervösen und gastro-intestinalen Symptome, welche bei einzelnen Epidemien in die Erscheinung traten, lassen sich nur durch die Annahme einer Mischinfektion zwischen Coli- oder Proteusgruppe einerseits und Bacillus botulinus anderseits erklären.

Die modernen bakteriologischen Forschungen haben also entschieden unsere Kenntnisse über das Wesen der Fleischvergiftungen gefördert. Ein Punkt aber harrte in dieser Lehre bisher immer noch einer einwandsfreien Erklärung: Wie verhält es sich mit denjenigen Fleischvergiftungsepidemien, die unter dem Bilde des Typhus abdominalis verlaufen sind? Mehrere solcher Massenerkrankungen sind in der Litteratur beschrieben worden. Um ganz sicher zu gehen, wollen wir von ihnen nur diejenigen in Betracht ziehen, bei denen der klinische Verlauf sowohl als auch ganz besonders der pathologisch-anatomische Sektionsbefund das deutliche Bild des Typhus abdominalis darbot. Diese Bedingungen erfüllen die Epidemien von Birmensdorf (1879) und Würenlos (1880), beide im Kanton Zürich. Allein in Birmensdorf hat man, wenn auch in geringem Mafse, mit der Möglichkeit einer postmortalen Verunreinigung des Fleisches zu rechnen, und in Würenlos ist es nicht absolut sicher bewiesen, dafs der Genufs des Fleisches die Ursache der Erkrankungen war. Es bleiben aber noch für unsere Betrachtung zwei Epidemien, die von Andelfingen (1839) und von Kloten (1878) übrig; sie sind dadurch berühmt geworden,

---

1) Über die einschlägige Litteratur vgl. die auf Anregung von E. Levy gefertigte Strafsburger Dissertation von B. Lehmann.

Die Litteraturangaben finden sich alphabetisch geordnet am Ende dieser Arbeit.

dafs sie zu einem lebhaften Meinungsaustausch über das Verhältnis der Fleischvergiftung zum Typhus geführt haben.

Die klinische Seite der Andelfinger und Klotener Erkrankungen haben vor allem von U. Zehnder, O. Wyfs und dessen Schülern so eingehende und kompetente Besprechungen erfahren, dafs wir auf Einzelheiten nicht einzugehen brauchen. Beide Epidemien traten nachweislich nach dem Genufs von Kalbfleisch auf. Für Andelfingen ist man nicht mehr in der Lage zu entscheiden, ob nicht eines der betreffenden Tiere krank war. Aber beim Fest in Kloten wurde das Fleisch zweier nach der Geburt erkrankter und im Alter von 7 Tagen notgeschlachteter Kälber aufgetischt. Dafs es sich bei beiden Epidemien um eine richtige Infektionskrankheit handelte, geht am klarsten aus der Thatsache hervor, dafs Sekundärerkrankungen zur Beobachtung kamen bei Individuen, die vom Fleisch nichts verzehrt hatten, die aber mit den primär Erkrankten in Kontakt gewesen waren. Die infektiöse Natur der Andelfinger und Klotener Fleischvergiftungen wird denn auch allgemein anerkannt; der Streit dreht sich einzig und allein um die Frage, ob ein echter Abdominaltyphus vorlag oder nicht.

In den in neuerer Zeit erschienenen Besprechungen und Abhandlungen neigen die Autoren entschieden mehr der Ansicht zu, dafs es sich um Typhus abdominalis gehandelt habe.[1] Bollinger, dem wir eine ausgezeichnete Abhandlung über die Fleischvergiftung verdanken, spricht sich mehr vermittelnd für eine besondere Form von mykotischer Infektion aus, »die grofse Ähnlichkeit, ja eine gewisse Verwandtschaft mit dem menschlichen Abdominaltyphus hat und vielleicht als eine Abart desselben betrachtet werden kann«. Das Vorkommen eines Kälbertyphus bestreitet er, denn »obwohl es doch an Gelegenheit zur Infektion nicht fehle«, sei »bisher ein dem Abdominaltyphus analoger Prozefs bei unseren Haustieren noch nicht beobachtet worden«. In diesem letzten Punkte gerade liegt die ganze Schwierigkeit einer plausiblen Erklärung für das Auftreten von

1) Die Vertreter dieser Ansicht sind a. a. O.: Sigg, U. Zehnder, Griesinger, Huguenin, O. Wyfs, C. Zehnder, Walder, Suter.

Abdominaltyphus nach dem Genufs von Fleisch. Unsere Schlachttiere weisen diese Erkrankung nicht auf, folglich erscheint deren Übertragung auf den Menschen schlechterdings unmöglich. Seitdem wir die spezifischen Erreger des Abdominaltyphus kennen, ist jedoch unseres Erachtens die Fragestellung eine ganz andere geworden. Wir brauchen nicht mehr nach einer Tierkrankheit zu suchen, die pathologisch-anatomisch Punkt für Punkt mit dem menschlichen Abdominaltyphus übereinstimmt. Es genügt vollauf, wenn wir bei den in Betracht kommenden Haustieren eine Affektion treffen, in deren pathologischen Produkten der Bacillus typhi sich vorfindet, mag diese Erkrankung nun in Form einer bacillären Pyämie oder Sepsis oder sonstwie verlaufen. Wissen wir doch gerade für die Typhusbacillen, dafs sie im Tierexperiment niemals das für den Menschen charakteristische Krankheitsbild hervorrufen, sondern dafs sie bei genügender Virulenz unsere Laboratoriumstiere unter septischen Erscheinungen zu Falle bringen. Wir verfügen nun, wie wir gleich vorweg betonen wollen, über einen Fund von Typhusbacillen beim Rinde, eine Beobachtung, die unseres Erachtens die Brücke zwischen Fleischvergiftung und Typhusabdominalis zu schlagen geeignet ist.

Am 19. März 1901 wurde im Strafsburger Schlachthofe eine Kuh geschlachtet, bei welcher der revidierende Tierarzt, Herr Trapp, einen grofsen Abscefs in der Milz und mehrere kleinere in der Leber auffand. Sonst bot das Tier keine Zeichen von Erkrankung dar. Sofort mit dem Eiter angefertigte mikroskopische Präparate liefsen zahlreiche Mikroorganismen erkennen. Diese Präparate und aufserdem ein grofses Stück der Milz erhielt dann das hygienisch-bakteriologische Institut zur Untersuchung und Nachprüfung. Die Durchmusterung der Präparate mit Ölimmersion lehrte uns nun, dafs es sich um Kurzstäbchen handelte, die, soweit man aus dem mikroskopischen Befund ein Urteil abzugeben in der Lage war, grofse Ähnlichkeit mit den Bacillen der Coli-Typhusgruppe aufwiesen. Zum gleichen Resultat gelangten wir, als wir aus dem Eiter uns selbst mikroskopische Präparate anlegten und nach den gewöhnlichen Methoden färbten. Mit dem Eiter eines noch absolut unberührten Teils des Abscesses

fertigten wir dann unter allen Vorsichtsmafsregeln Gelatineplatten und Agarstrichplatten an. Auf sämtlichen Platten kam es ausschliefslich zum Wachstum zahlreicher Kolonien einer einzigen Bakterienart, welche offenbar in die Typhuskoligruppe eingereiht werden mufste. Für die zu ergreifenden veterinärpolizeilichen Mafsregeln durften wir selbstverständlich die genaue Identifizierung des von uns gefundenen Bacillus nicht abwarten, da dieselbe unter Umständen Wochen in Anspruch nehmen konnte. Das Schlachthaus erhielt denn auch den telephonischen Bescheid, dafs bereits auf Grund der mikroskopischen Präparate das Fleisch dieser Kuh beanstandet werden müfste. Wir haben ja vorhin gesehen, dafs gerade die Bacillen der Colityphusgruppe in der Hauptsache bei der Entstehung der gastrointestinalen Form der Fleischvergiftung anzuschuldigen sind. Einzelne Repräsentanten dieser Gruppe verfügen bekanntlich über Stoffwechselprodukte, die sogar Siedehitze ertragen (z. B. Bac. Breslaviensis und Bac. enteritidis Gärtner). Deswegen durfte auch nicht ohne weiteres das Verkaufen des gekochten Fleisches gestattet werden. Es wurden nun grofse Fleischstücke der betreffenden Kuh ins Institut übersandt. Dieselben erwiesen sich bei unserer bakteriologischen Prüfung, die sich sowohl auf aerobe als auch anaerobe Mikroorganismen erstreckte, als vollständig steril.

Die weitere Verfolgung der morphologischen und biologischen Eigenschaften unseres Stäbchens führte zu dem überraschenden Resultat, dafs es sich vom echten Typhusbacillus nicht unterscheiden liefs. Die Bacillen besitzen eine Länge von 2 bis 3 μ, färben sich leicht nach den gewöhnlichen Verfahren, Gram negativ. Sie verfügen über eine lebhafte Beweglichkeit und weisen eine entschiedene Neigung zur Fadenbildung auf. Temperaturoptimum 37°. Auf der Gelatineplatte interessieren besonders die oberflächlichen Kolonien; sie stellen einen bläulich irisierenden feinen Überzug dar mit unregelmäfsig gezacktem Rande. Bei schwacher Vergröfserung sieht man die Mitte der Kolonie gelblich gefärbt, gegen den Rand zu beobachtet man ein zierliches Furchenliniennetz. Keine Verflüssigung der Gelatine. Die Oberfläche des Gelatinestichs verhält sich genau wie eine oberfläch-

liche Plattenkolonie, Wachstum längs des ganzen Impfstichs. Bouillon zeigt gleichmäſsige Trübung, Agarstrichkultur weiſsen dünnen Überzug. Auf der Kartoffel entwickelt sich unser Stäbchen in einem hellen, weiſslichen Rasen. Wir beschickten auf ein und derselben Kartoffelscheibe die eine Hälfte mit einem absolut sicheren Typhusbacillus, die andere Seite mit dem Schlachthausmikroorganismus. Zwischen beiden Rasen war auch nicht der geringste Unterschied zu bemerken. In sterilisierter Milch gedeihen unsere Stäbchen üppig, selbst nach Wochen kommt es jedoch nicht zur Gerinnung. In den Peptonbouillonkulturen ist auch nach 14 Tagen kein Indol nachweisbar. Traubenzuckerbouillon (2 %) zeigt wohl deutliche Säuerung, dagegen keine Gasbildung. Bei dem Wachstum auf Petruschkyscher Lakmusmolke entwickeln sich unsere Bacillen absolut gleich den Typhuserregern. Auf dem neuerdings von v. Drigalski und Conradi empfohlenen Nährboden erzeugt der Schlachthausbacillus genau dieselben blauen durchsichtigen Kolonien wie die aus einer Typhusmilz gewonnenen Eberth-Gaffkyschen Stäbchen. Im Neutralrotnährboden von Rothberger gezüchtet (Schüttelkultur), hellt unser Bakterium das Nährmaterial nicht auf und bringt dasselbe auch nach vielen Tagen nicht zum Fluoreszieren. Diese Neutralrotreaktion nach Rotberger scheint nach neueren Untersuchungen ganz vortreffliche Dienste bei der Differenzierung des Bacillus typhi abdominalis von den übrigen Spezies der Coligruppe zu leisten. Auch Kayser, der im hiesigen Institut sorgfältige vergleichende Untersuchungen mit acht Stämmen der Typhus-Coli resp. der Fleischvergiftungsgruppe anstellte, kommt für den Rothbergerschen Nährboden zu ähnlich günstigen Resultaten. Nach den bisherigen Erfahrungen bringt denselben einzig und allein der Typhusbacillus weder zur Aufhellung noch zur Fluorescenz.

Pathogen erwies sich unser Stäbchen nur in verhältnismäſsig groſsen Dosen von 1 bis 5 ccm und zwar für Maus, Meerschweinchen und Kaninchen bei subkutaner, intraperitonealer und intravenöser Injektion. Die Tiere fielen nach zwei bis neun Tagen an Sepsis, sie zeigten bisweilen heftige Diarrhoen;

im Blute und in den inneren Organen fanden sich massenhaft die eingeführten Bacillen in Reinkultur vor.

Zur weiteren Charakterisierung unseres Schlachthausbacillus zogen wir nun die Gruber sche Agglutinationsreaktion in ausgedehnter Weise heran. Wir immunisierten einerseits Kaninchen gegen Typhusbacillen und anderseits Kaninchen gegen die Schlachthausbacillen. Die Tiere erhielten in subkutaner Injektion steigende Dosen von 48 stündigen Bouillonkulturen, die durch 15 Minuten langes Erhitzen auf 57° abgetötet worden waren. Wir benutzten zur Blutentnahme ein mit Schlachthausbacillenkultur behandeltes Tier, das 7 ccm und ein mit Typhuskultur gespritztes Tier, das 8 ccm ertragen hatte. Das Typhusserum agglutinierte makroskopisch die Typhusbacillen und die Schlachthausbacillen bis hinauf zum Verhältnis 1:4000. Auch mikroskopisch fanden wir dieselbe Grenzzahl. Unter dem Mikroskop verlief in einem Versuch das Phänomen folgendermaſsen: Bis auf 1 : 250 trat bei beiden Bacillen die Agglutination sofort ein, bei 1 : 500 nach 10 Minuten, bei 1 : 1000 nach 18 Minuten, bei 1 : 1500 nach 20 Minuten, bei 1 : 2000 nach 30 Minuten, bei 1 : 3000 nach 60 Minuten und schlieſslich bei 1 : 4000 nach 65 Minuten. Das Kaninchen mit Schlachthausbacillen geimpft lieferte ein Serum, das die eigenen Bacillen und ebenso die Typhusmikrobien noch in der Verdünnung 1 : 3000 zur Agglutination brachte.

Bei differentialdiagnostischen Untersuchungen von morphologisch einander nahe stehenden Bakterien gilt das Agglutinationsphänomen, wenn es in denselben Verdünnungen sich einstellt wie bei den Bacillen, mit denen das serumspendende Tier immunisiert wurde, als ausschlaggebend. Der Schlachthausbacillus, der von unserm Typhusserum im Verhältnis 1 : 4000, also so hoch, wie die Typhusbacillen selbst agglutiniert wird, und dessen eigenes Serum bei dem Typhusstäbchen sowohl als auch bei ihm selbst die Grubersche Reaktion noch in der Verdünnung 1:3000 positiv ausfallen läſst, muſs also unbedingt für einen echten B. typhi abdominalis gehalten werden. Es kann zuweilen, wie wir aus einzelnen Beobachtungen der neueren Zeit wissen,

ein hochwertiges Immunserum in starker Verdünnung die Agglutination zweier Bakterienstämme bewirken, ohne dafs dies ein Ausdruck ihrer Artidentität, sondern blofs der einer Artverwandtschaft zu sein braucht. Durch die Agglutinationsreaktion hat de Nobele eine Verwandtschaft zwischen dem Typhusbacillus und einigen Fleischvergiftungsbakterien nachgewiesen. Er notiert für ein Immunserum des Fleischvergiftungsbacillus Bruges eine Agglutinationsfähigkeit von 1:2000 gegenüber den Typhusbacillen, gegenüber den eigenen Bruges-Stäbchen merkwürdigerweise nur von 1:1500. Ein von de Nobele benutztes, ganz hochwertiges Typhusimmunserum, welches Typhusbacillen in der Verdünnung 1:35000 agglutinierte, wirkte auf den Bacillus Bruges allerdings erst im Verhältnis 1:3000. Die Möglichkeit ist also gegeben, wie das auch de Nobele betont, dafs, wenn man stets homolog und heterolog prüft, übers Kreuz immer die verschiedenen Bakterien und die ungleichnamigen Immunsera heranzieht, und dabei die Immunisierung der blutspendenden Tiere möglichst hoch hinauftreibt, man in die Lage versetzt wird, die Unterschiede herauszufinden. Man mufs dabei für die sämtlichen zu prüfenden Bakterien die obere Agglutinationsgrenze bestimmen, und zwar am besten makroskopisch. Bei unseren überaus zahlreichen Agglutinationsversuchen, auch mit anderen Bakterien, ist es uns nach den ebengenannten Prinzipien immer geglückt, die Differentialdiagnose zu stellen. Morphologisch und biologisch auch nur in geringen Einzelheiten sich verschieden verhaltende Bakterien liefsen schliefslich auch in der Agglutination Differenzen erkennen. Nachträglich ist es uns möglich gewesen, unser Resultat durch ein äufserst hochwertiges Typhusimmunserum vom Pferd, das wir der Güte des Herrn Professor Tavel in Bern verdanken, nachzuprüfen. Dieses Serum mit dem Titer 50000 (mikroskopisch) beeinflufste den Schlachthausbacillus ebenso stark wie verschiedene Typhusstämme unserer Sammlung.

Der Bacillus, welchen wir aus der Milz der Kuh herauszüchteten, stimmt in allen Punkten mit allen uns zur Verfügung stehenden Typhusstämmen überein, wir vermochten auch nicht die geringste Abweichung zu konstatieren. Wir sind also nach

dem heutigen Stand der Wissenschaft berechtigt, ihn für einen legitimen Bacillus des Abdominaltyphus auszugeben. Es ist dies unseres Wissens der erste derartig gemachte Befund beim Rinde.

Aufserhalb des typhös erkrankten menschlichen Organismus sind die Eberth-Gaffkyschen Stäbchen bereits früher angetroffen worden. Lösener gewann dieselben in der Zeit vor der Entdeckung der Agglutinationsreaktion aus einer Wasserleitung und aus Ackererde. Remlinger und Schneider sprechen auf Grund ihrer aus Wasser, Boden und Fäces erhobenen Befunde, die sie durch Baktericidie und Agglutination kontrollierten, direkt von einer »banalité du germe typhique«. Die Möglichkeit, dafs Typhuskeime in der Natur vorkommen, mufs entschieden zugegeben werden. Sie vermögen sich sogar, wie bekannt, in Flufs- und Brunnenschlamm, in den oberflächlichen Bodenschichten verhältnismäfsig lange Zeit lebend zu erhalten, wenn nur nicht zu viel Fäulnisbakterien neben ihnen vorhanden sind.

Gelegenheit für unsere Haustiere, sich mit Typhusbacillen zu infizieren, ist also unter Umständen wohl gegeben. Die Übertragung vermag auf verschiedenen Wegen bewerkstelligt zu werden, so z. B. durch Typhuskeime von Individuen, die selbst an leichten Typhusdiarrhöen erkrankt oder mit Typhuskranken in Berührung gewesen sind, oder aber durch solche, die sich in der Umgebung des Stalles infektionstüchtig erhalten haben. Das Haftenbleiben der Typhusbacillen im tierischen Organismus, ihre Vermehrung in demselben und damit das Zustandekommen der Erkrankung wird allerdings nur höchst selten vor sich gehen, denn sonst müfsten mehr diesbezügliche Beobachtungen in der Litteratur vorliegen. Dafs aber ein Auslösen von Erkrankung durch die Typhusbacillen beim Rinde wenigstens nicht zu den Unmöglichkeiten gehört, beweist eben unser Fund der spezifischen Stäbchen in dem Milzabscefs einer Kuh. Wie dieser Abscefs zu stande gekommen, liefs sich nicht feststellen; ob infolge von Septicopyämie, ist fraglich. Beim Menschen beobachtet man zuweilen auch gröfsere, von Typhusbacillen hervorgerufene Abscesse. Dieselben treten aber in der Regel erst nach Abklingen der Darmsymptome in die Erscheinung. Wir müssen uns hier

weiter der Thatsache erinnern, dafs im Laboratoriumsexperiment der Typhusbacillus ausschliefslich septische Erkrankungen der Versuchstiere entfacht. Vielleicht stellt auch der Kälbertyphus, den einzelne Autoren zur Erklärung des Auftretens von Typhussymptomen nach Kalbfleischgenufs annehmen, nichts weiter dar als eine Allgemeininfektion dieser jungen Tiere mit Typhusbacillen. Die offene Nabelwunde bietet ja zur Aufnahme der Keime eine günstige Eintrittspforte. Jedenfalls wird bei den in Betracht kommenden Epidemien das Vorhandensein einer Nabelentzündung bei den angeschuldigten Kälbern häufig angegeben, so in Würenlos, in Kloten und wahrscheinlich ist auch in Birmensdorf dasselbe der Fall gewesen.

Haben wir es aber beim Kalb oder beim Rinde mit einer Typhusbacillen-Allgemeininfektion zu thun, so vermag auf der Höhe der Erkrankung das Muskelfleisch sowohl wie die inneren Organe die Typhuserreger in ihren Blutgefäfsen zu führen. Wird nun solches Fleisch u. s. w. roh genossen oder nach raschem Braten verzehrt, wobei im Innern der Stücke nicht diejenige Temperatur zu herrschen pflegt, die nötig ist, um die Typhusbacillen abzutöten, so kann bei bestehender Disposition des betreffenden Individuums die Erkrankung sich einstellen.

Die Besprechung des Zusammenhanges von Fleischvergiftung und Typhus würde unseres Erachtens unvollständig sein, wenn wir nicht auch des sogen. Paratyphus gedächten. Schottmüller gebührt das Verdienst, als der Erste darauf hingewiesen zu haben, dafs unter den Fällen, die klinisch noch zum Typhus abdominalis gerechnet werden, eine nicht allzugeringe Anzahl sich befinden, bei denen die bakteriologische Untersuchung keine Typhusbacillen, sondern Mikroorganismen der Typhus-Coligruppe, sogen. Paratyphusbacillen erkennen läfst. Bei all diesen typhusverdächtigen Patienten fiel die Gruber-Widalsche Reaktion gegen Typhusbacillen negativ aus. Schottmüller isolierte zwei Arten. Dieselben lassen sich gegenseitig durch die Entwicklung auf Kartoffel, Gelatine und Lakmusmolke differenzieren. Beide Spezies unterscheiden sich vom Typhusbacillus einerseits und vom Bacterium coli anderseits. Kurth veröffentlichte dann einen ähnlichen

Bacillenbefund; sein Bacillus bremensis febris gastricae ist nach den Untersuchungen von Bruns und Kayser mit dem zweiten Typus von Schottmüller identisch. Weiter haben Brion und Kayser in der medizinischen Klinik und im hygienischen Institut hier gleichfalls einen Fall von Paratyphus zu beobachten Gelegenheit gehabt, als dessen Erreger sie den Paratyphusbacillus vom ersten Typus Schottmüllers mit aller nur wünschenswerten Sicherheit sogar in den Fäces und Urin nachwiesen. Schliefslich haben de Feyfer und H. Kayser eine Paratypusendemie (14 beschriebene Fälle) in Eibergen (Holland) beobachtet. Als deren Erreger stellten sie den B. paratyphi vom Typhus B. fest. Das Vorkommen von Paratyphus beansprucht also nicht nur lokales, sondern ganz allgemeines Interesse; sind doch die Paratyphusbacillen als die Ursache typhusähnlicher Erkrankungen in verhältnismäfsig kurzer Zeit an vier verschiedenen Orten, in Hamburg, Bremen, Strafsburg und Eibergen aufgefunden worden. Für die uns vorliegende Frage der Fleischvergiftung erscheint es aber von Wichtigkeit, dafs diese Lebewesen, wie ja der ihnen gegebene Name bereits ausdrücken soll, in die grofse Typhus-Coligruppe gehören. Wir dürfen sie daher unbedingt in verwandtschaftliche Beziehung bringen zu den bisher bekannten Erregern der gastrointestinalen Fleischvergiftung, sowie zu den bei Fällen von Kälber-, Rinder-Septikämie und anderen Tierseuchen gefundenen Bakterien, die ja gleichfalls in diese Gruppe eingereiht werden müssen. Eine Bestätigung findet diese Ansicht durch die neuerdings angeführten schon oben erwähnten Agglutinationsversuche von Bruns und Kayser. Es scheint, dafs die ganze Reihe der Bakterien der Coli-Typhusgruppe für Menschen und Tiere pathogen wirken kann.

Litteraturnachweis.

Biermer, Correspondenzblatt f. Schweizer Ärzte, IV, 1874, S. 46.

Bollinger, Zur Ätiologie der Infektionskrankheiten 1881. (Auch in: Münchner medizin. Wochenschrift, XXVIII, Nr. 15—18, 1881.)

Brion und H. Kayser, Über eine Erkrankung mit dem Befunde eines typhusähnlichen Bakteriums im Blute. Münchner medizin. Wochenschrift 1902, Nr. 15.

H. Bruns u. H. Kayser, Über d. Verwertbarkeit d. Agglutinationsphänomens zur klin. Diagnose u. zur Identifizierung v. Bakterien d. Typhus-Coli-Gruppe (Paratyphus). Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1902.

Butter und Huber, Die Massenerkrankungen in Wurzen im Juli 1877. (Milzbrand oder putride Infektion.) Archiv der Heilkunde 1878. (S. 39 bis 42 Besprechung der Andelfinger Epidemie.)

v. Drigalski und Conradi, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. XXXIX, Heft 2, S. 283 ff.

Eberth, Der Typhusbacillus und die intestinale Infektion. (Sammlung klin. Vorträge Nr. 226, 1883.)

F. de Feyfer u. H. Kayser, Eine Endemie von Paratyphus. Münchner med. Wochenschr. 1902.

Griesinger, Virchows Handbuch der Pathologie u. Therapie, Bd. II, S. 125.

Derselbe: Die Andelfinger Epidemie zum letzten Male. (Deutsches Archiv für klinische Medizin, III, 1867, S. 509.)

Huguenin, Correspondenzblatt f. Schweiz. Ärzte, VIII, 1878, S. 15. (Klotener Epidemie.)

Derselbe: Über die Typhusepidemie in Kloten. (Daselbst, IX, 1879, S. 137.)

Derselbe: daselbst, IX, 1879, S. 504. (Birmenstorfer Epidemie.)

Huber, Über Fleischvergiftungen mit spezieller Berücksichtigung der »Typhusepidemie« von Kloten. (Deutsch. Archiv f. klinische Medizin, XXV, S. 220 ff.)

Jahresbericht des Gesundheitsrates an die Regierung in Zürich über das Medizinalwesen des Kantons im Jahre 1839. (Andelfinger Epidemie.)

Heinr. Kayser, Das Wachstum der zwischen Bac. Typhi und Coli stehenden Spaltpilze auf dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden. Centralblatt für Bakteriologie, I. Abteilung, 1902. (Dort auch Prüfung der Rothbergerschen Schüttelkultur und Angabe der Litteratur über dieselbe.)

R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen 1893, S. 713—719.

Köhler, Handbuch der speziellen Therapie, 3. Aufl., Bd. I, 1867, S. 5. (Andelfinger Epidemie.)

Kurth, Eine typhusähnliche, durch einen bisher nicht beschrieb. Bacillus (Bac. bremens. febr. gastric.) bedingte Erkrankung. (Deutsche medizin. Wochenschr. 1901, Nr. 30, 31.)

Lebert, Handbuch der praktischen Medizin, Bd. I, 3. Aufl., S. 434. (Andelfinger Epidemie.)

Lehmann, Über die bakteriologische Ätiologie der Fleischvergiftung. Diss. inaug., Strafsburg 1901.

Liebermeister, Zur Ätiologie des Abdominaltyphus. (Deutsche Klinik, 1866, Nr. 6—10.)

Derselbe: Deutsches Archiv für klinische Medizin, III, 1867, S. 221 ff. u. 510. (Andelfinger Epidemie.)

Lösener, Über das Vorkommen von Bakterien mit den Eigenschaften der Typhusbacillen in unserer Umgebung ohne nachweisbare Typhuserkrankungen nebst Beiträgen zur bakteriolog. Diagnose des Typhusbacillus. (Arbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. XI, 1895.)

Nieriker, Correspondenzblatt f. Schweizer Ärzte, XI, 1881, S. 554. (Würenloser Epidemie.)

de Nobele, Le séro-diagnostic dans les affections gastro-intestinales d'origine alimentaire. Deuxième mémoire 1901.

Remlinger et Schneider, Étude du bacille typhique. (Annale de l'institut Pasteur, IX, 1897.)

Rothberger, Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden. (Centralblatt für Hygiene, Bd. XXIV, S. 513 ff. und Bd. XXV, S. 15 und 69.)

Schmidts Jahrbücher, Bd. 31, 1841, S. 34 (Andelfinger Epidemie) und Bd. 193, 1882, S. 81 ff. (Klotener Epidemie.)

Schottmüller, Über eine das Bild des Typhus bildende Erkrankung, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen. (Deutsche mediz. Wochenschrift 1900, Nr. 32.)

Derselbe: Weitere Mitteilungen über mehrere, das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen (Paratyphus). (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, XXXVI, Heft 3, S. 368.)

Siedamgrotzky, Über Fleischvergiftung. (Vorträge f. Tierärzte, III. Serie, Heft 2.)

J. Sigg, Geschichte einer im Jahre 1839 im Bezirke Andelfingen im Kanton Zürich durch den Genufs verdorbener Fleischspeisen entstandenen Krankheit. (Hufelands Journal d. prakt. Heilkunde, IX, 5. Stück, 1841.)

J. Suter, Die Fleischvergiftungen in Andelfingen u. Kloten. (Diss. inaugural., Zürich 1889; auch in: Hygien. Tagesfragen 1889, Nr. 6.)

C. Walder, Berliner klin. Wochenschrift, XV, 1878, Nr. 39 u. 40. (Klotener Epidemie.)

Derselbe: Die Fleischvergiftung in Kloten. (Diss. inaug., Leipzig 1879.)

O. Wyfs, Correspondenzblatt f. Schweizer Ärzte, X, 1880, S. 716. (Würenloser Vergiftung.)

Derselbe: Über typhöse Erkrankungen durch Fleischgenufs. (Daselbst, XI, 1881, S. 161 u. in d. folgenden Heften.)

Derselbe: Die Typhusepidemie von Kloten. Blätter f. Gesundheitspflege, VII. Jahrg. 1878.

C. Zehnder, Über die Massenvergiftung in Andelfingen 1839. (Daselbst, IV, 1874, S. 42 ff.)

Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum.

Von

Dr. **Paul Theodor Müller,**
Assistent am Institute.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Graz.)

I. Einleitung.

Man hat sich in den letzten Jahren mit groſsem Eifer dem Studium der tierischen und pflanzlichen Fermente hingegeben und hat in der That nicht nur bei vielen niederen Organismen, wie Hefearten, Schimmelpilzen, Bakterien, sondern auch bei vielen höheren Pflanzen und Tieren in den Geweben und Körperflüssigkeiten — um von den Sekreten und Exkreten ganz zu schweigen — eine groſse Reihe von derartigen Fermenten auffinden können, denen zum Teil sehr verschiedenartige chemische Leistungen zukommen. Ich erinnere hier nur an die im Blutserum entdeckten diastatischen Wirkungen, welche sich nicht nur auf die Stärke, sondern auch auf andere Polysaccharide erstrecken; an die fettspaltende Kraft des extravaskulären Blutes, an die zuckerzerstörenden, glykolytischen Eigenschaften derselben, bedingt durch Fermente, deren Studium bereits eine ganze Litteratur gewidmet ist. Aber auch aus den tierischen Geweben hat man, abgesehen von den schon lange darin bekannten peptischen, diastatischen und invertierenden Enzymen, welche sich nur in Spuren daselbst vorfinden und wohl nur in den Säften gelöst

sind, neuerdings eine ganze Anzahl von Fermenten isolieren können, welche zum Teil oxydierende Eigenschaften besitzen; so »Oxydasen«, welche im stande sind, Salicylaldehyd, Benzylalkohol, Benzol zu oxydieren, die oxydative Synthese von Indophenol zu bewerkstelligen. Endlich hat man in den Geweben proteolytische Enzyme entdeckt, welche die Selbstverdauung (Autodigestion, Autolyse) normaler und pathologischer Organe (Phosphorleber, Carcinomgewebe etc.) veranlassen.

Bei der Ausdehnung und der Fruchtbarkeit dieser Bestrebungen, Fermente aus den normalen und pathologisch veränderten tierischen Geweben und Säften zu isolieren und in ihrer Wirksamkeit zu studieren, ist es wohl begreiflich, dafs man sein Augenmerk bald auch auf gewisse andere Prozesse zu lenken begann, deren fermentative Natur zwar nicht so ohne weiteres am Tage lag, die jedoch anderseits viele unverkennbare Analogien mit den echten enzymatischen Vorgängen aufweisen. Ich meine vor allem die den normalen und besonders den Immunseris zukommende Fähigkeit, Bakterien abzutöten und nach eingetretenem körnigen Zerfalle (Pfeiffersches Phänomen) vollständig aufzulösen. Schon Nencki[1]) hatte vermutungsweise die Fermentnatur der wirksamen Substanzen des Serums behauptet. R. Pfeiffer[2]) hatte dann auf Grund seiner gemeinsam mit Proskauer angestellten Versuche, nach welchen die Cholera-Immunkörper gegen die Einwirkung von Pepsin und Trypsin ziemlich resistent sind und nach längerer Einwirkung dieser Fermente durch Dialyse von den Albumosen, Peptonen und Salzen des Serums getrennt werden können, die Hypothese aufgestellt, dafs diese Immunkörper Enzyme seien, die in einer aktiven und einer inaktiven (Proferment?) Modifikation existieren, wofür ihm noch die besondere Widerstandsfähigkeit dieser Substanzen gegen Fäulnis und gegen die Erwärmung auf 60° zu sprechen schien. Diese Enzyme sollten nur auf die Eiweifskörper der Choleravibrionen abgestimmt sein, andere Bakterienleiber aber intakt lassen.

Pfeiffer stellte sich vor, dafs die inaktive Modifikation, das Proferment (unter dem Einflufs eines besonderen Enzymes?)

in das eigentlich wirksame Ferment erst im Tierleibe übergeführt werde.

In neuerer Zeit haben ferner Emmerich und Löw[3]) die bakteriolytischen Wirkungen der Immunsera auf die in den Bakterienkulturen vorgebildeten und mit Eiweifskörpern der immunisierten Tiere in Verbindung getretenen Enzyme zurückzuführen gesucht. Im Gegensatz zu den letzteren beiden Autoren nimmt Buchner[4]) an, dafs es sich bei dem Zustandekommen der bakterициden Wirkungen zwar um eine Fermentwirkung handle, dafs aber diese Fermente aus den Leukocyten stammen, und mit den schon von Leber u. a. nachgewiesenen proteolytischen Fermenten der Eiterzellen identisch seien. Nach der Auffassung Buchners besteht somit die Abtötung und Auflösung der Bakterien in nichts anderem als in einer Art Verdauungswirkung, das Wort im weitesten Sinne genommen.

Mit Rücksicht auf die in den letzten Jahren gewonnene Erkenntnis über die Herkunft der baktericiden Stoffe aus den Leukocyten mufs es gewifs als in hohem Grade wahrscheinlich bezeichnet werden, dafs die proteolytischen wie die bakteriolytischen Wirkungen auf eine stoffliche Ursache, auf ein und dasselbe eiweifslösende Ferment zu beziehen sind; einen exakten Beweis für diese Hypothese hat jedoch Buchner nicht erbracht, ja nicht einmal die allgemeine Fermentnatur dieser Stoffe konnte bis jetzt einwandsfrei bewiesen werden.

Wir sind damit bei der Frage angelangt, wann man denn den Nachweis eines derartigen Fermentes als gelungen ansehen kann. Meines Erachtens nur dann, wenn man in der Lage ist, chemisch die Umwandlung, Spaltung, Oxydation etc. der dem supponierten Ferment unterworfenen Substanzen fassen und charakterisieren zu können. Rein morphologische Veränderungen, wie Quellen, Platzen der Bakterienmembranen, Granulabildung etc. können dieser Anforderung nicht Genüge leisten, da sie sowohl durch physikalische wie chemische Agentien zu stande kommen können, ohne dafs Fermentwirkung dabei im Spiele sein mufs. In der That hat Fischer[5]) in der neuesten Zeit die baktericiden Phänomene auf rein osmotische Vorgänge, Plas-

molyse und Plasmoptyse, zurückzuführen versucht, und wenn auch dieser Versuch durch v. Lingelsheim[6]) und Hegeler[7]) eine experimentelle Zurückweisung erfahren hat, so können doch derartige physikalisch - chemische Einflüsse erst dann mit Sicherheit als Ursache der baktericiden Wirkungen ausgeschlossen werden, wenn es, wie gesagt, gelingen wird, Verdauungsprodukte der Bakterienleiber aus den mit wirksamem Serum versetzten Aufschwemmungen der Mikroorganismen zu isolieren. Es kann nicht zweifelhaft sein, dafs diese Aufgabe auf grofse, vielleicht derzeit noch unüberwindliche Schwierigkeiten stofsen dürfte, schon aus dem Grunde, weil bei diesen Prozessen neben den bekannten Eiweifskörpern des verwendeten Serums noch die wenig studierten Proteinkörper der Bakterienleiber in Betracht kommen.*)

Viel günstiger liegen in dieser Hinsicht die Verhältnisse bei den hämolytischen Prozessen, welche ja anerkanntermafsen den baktericiden so aufserordentlich nahe stehen; hier sind wenigstens beide in Betracht kommenden Komponenten, Serum wie Erythrocyten, bis zu einem gewissen Grade genau bekannt. Es konnte daher Nolf[8]) den Versuch machen, Buchners Anschauungen über die Fermentnatur der Alexine einer direkten Prüfung zu unterziehen, indem er zu ergründen trachtete, ob bei der Hämolyse Albumosen oder Peptone entstehen. Da er bei seinen Experimenten nur negative Resultate zu verzeichnen hatte und weder eine Verdauung des Hämoglobins noch eine Peptonisierung der Stromata der roten Blutkörperchen nachweisen konnte, so kommt Nolf zu dem Schlusse: »Qu'il faut rejeter toute explication enzymatique de l'action globulicide des alexines«. Mir scheint diese Schlufsfolgerung nicht ganz zwingend zu sein Denn da Nolf keine genaueren Angaben über die Blutmengen macht, die er verarbeitete, und jedenfalls einen Versuch, eventuell

*) Durch die schönen Arbeiten von E. P. Pick, welche eben in Hofmeisters Zeitschr. für die ges. Biochemie erschienen sind, und welche wesentliche Aufschlüsse über die bei der Agglutination und der spezifischen Niederschlagsbildung ins Spiel kommenden bakteriellen Substanzen bringen, ist allerdings die Möglichkeit der Lösung dieser Frage um vieles nähergerückt.

nur in geringer Menge vorhandene Albumosen und Peptone zu konzentrieren, nicht unternommen zu haben scheint, so wäre es noch immerhin möglich, daſs derartige geringe Quantitäten sich dem Nachweise entzogen hätten, und es erscheint daher schwer, ein definitives Urteil über Nolfs Versuche abzugeben. Neuerdings hat sich übrigens auch Gruber[9]) davon überzeugt, »daſs in einer Flüssigkeit, in welcher reichlich rote Blutkörperchen der Serumwirkung zum Opfer gefallen sind, keine Verdauungsprodukte nachweisbar sind«.

Noch geeigneter als die hämolytischen Vorgänge, bei denen wie bei den baktericiden geformte, organisierte Elemente ins Spiel kommen, schien mir nun für das Studium der uns beschäftigenden Frage eine andere Gruppe von Phänomenen zu sein, welche durch das Serum immunisierter Tiere hervorgerufen werden, und einerseits zu den fermentativen Prozessen, anderseits zu den erwähnten zellenlösenden Wirkungen in nahen Beziehungen stehen; ich meine die Präcipitatbildungen, die bei der Vermischung der Immunsera mit den zur Immunisierung verwendeten Flüssigkeiten eintreten. Da diese »Präcipitine« nicht nur nach Einverleibung von Bakterienkulturfiltraten (Kraus) von Serum und Milch anderer Tierspecies (Bordet) auftreten, sondern auch bei Injektion reiner Eiweiſskörper (Krystallis. Eiereiweiſs, Serumglobulin, Wittes Pepton) entstehen, wie Myers[10]) und Ide[11]) gefunden haben, so ist man also hier in der Lage, die Zahl der in Betracht kommenden unbekannten chemischen Substanzen wesentlich zu reduzieren und dieselben auf das betreffende Immunserum zu beschränken, indem man von genau bekannten Eiweiſskörpern ausgeht und mit diesen die Versuchstiere behandelt.

Es schien mir aus verschiedenen Gründen am zweckmäſsigsten, vor allem die Verhältnisse der Kaseinfällung durch Immunserum zu studieren. Denn einmal weicht das Kasein in seinen Eigenschaften sehr bedeutend von den Serumeiweiſskörpern ab und ist leicht von denselben zu trennen, zweitens aber — und dieser Grund war für mich ausschlaggebend — unterliegt das Kasein einer fermentativen Gerinnung und leicht nachweisbaren

Spaltung durch das Labferment, welche äufserlich eine so grofse Ähnlichkeit mit der gedachten Fällung durch Immunserum besitzt, dafs ein Vergleich der beiden Prozesse mit Rücksicht auf die eventuell gebildeten Spaltungsprodukte sehr wünschenswert erscheinen mufste. Überdies war, da die anderen Eiweifskörper der Milch denen des Serums sehr nahe stehen, eine mehr minder mühsame Reinigung des Ausgangsmaterials überflüssig, und konnte die Immunisierung der Tiere ohne weiters mit Milch vorgenommen werden.

Unsere Frage lautet somit, nunmehr spezieller gefafst, folgendermafsen: Ist die kaseinfällende Wirkung des Laktoserums durch ein Ferment bedingt oder nicht, und lassen sich Spaltungsprodukte des Kaseins in dem Gemisch von Serum und Milch nachweisen?

II. Eigenschaften des Laktoserums.

In der bisher ziemlich spärlich gebliebenen Litteratur über das Laktoserum lassen sich nur wenige Angaben auffinden, welche zur Entscheidung unserer Frage herangezogen werden könnten. So macht Bordet[12]) schon in seiner ersten Mitteilung auf gröfsere Unterschiede aufmerksam, welche zwischen der Wirkungsweise des Labfermentes und des Laktoserums bestehen. Während das erstere nämlich nur bei höheren Temperaturen zur Wirkung gelangt, zeigt sich das Laktoserum viel weniger von der Temperatur abhängig und wirkt schon bei Zimmerwärme. Ferner fällt das Kasein bei der Einwirkung des Laktoserums in feinen Flocken aus, während sich bei der Labgerinnung ein massiges Koagulum bildet. Begreiflicherweise läfst sich jedoch aus diesen Thatsachen höchstens der Schlufs ziehen, dafs die beiden präcipitierenden Agentien nicht miteinander identisch sind, eine Folgerung, deren Richtigkeit dadurch vollends erwiesen wird, dafs, wie ich gefunden habe, das wirksame Agens des Laktoserums schon bei Halbsättigung mit Ammonsulfat ausgesalzen wird — sich also ähnlich verhält wie das von Fuld und Spiro[13]) studierte labende Ferment des normalen Pferde-

serums —, während das Labenzym sich erst bei viel höherer Salzkonzentration abscheidet. — Ob aber diese Serumfällung auf einer Enzymwirkung beruht oder nicht, läfst sich aus den angeführten Thatsachen nicht entnehmen, und Bordet enthält sich daher in dieser Richtung jeder Äufserung.

In einer kürzlich erschienenen Publikation spricht sich hingegen Moro[14]) gegen die Enzymnatur des wirksamen Prinzips des Laktoserums aus, und zwar mit Rücksicht auf die Fähigkeit desselben, Temperaturen über 56° zu ertragen, ohne an seiner spezifischen Wirksamkeit wesentlich einzubüfsen. Ich glaube jedoch nicht, dafs diese Schlufsfolgerung bindend ist. Denn einmal sind unsere Kenntnisse über das Wesen und die Eigenschaften der Fermente noch so ungenügende, dafs es wohl nicht angeht, einem Körper blofs auf Grund einer so accidentellen Eigenschaft, wie sie die Resistenz gegenüber gewissen Temperaturgraden darstellt, ohne weiteres die Fermentnatur abzusprechen; zweitens aber sind sogar schon Fermente bekannt, welche höhere Temperaturen als 56° ohne Schädigung ertragen. So wird das Ptyalin des frischen unverdünnten Speichels nach Biernacki[15]) erst bei 5 Minuten langem Erwärmen auf 65—70° vernichtet, und verträgt niedrigere Temperaturen selbst 15—20 Minuten lang, ohne eine merkliche Abnahme seiner Wirksamkeit zu erfahren. Bemerkenswert ist dabei, dafs die Enzyme im isolierten Zustande viel empfindlicher sind als in den Sekreten, und dafs ihre Resistenz durch Zusatz geringer (nicht über 0,5%) Salzmengen, ferner von Eiweifskörpern, wie Albumosen und Peptonen, nicht unwesentlich erhöht wird; so steigt die vernichtende Temperatur verdünnten Speichels, die bei 60° liegt, nach Peptonzusatz auf 70°. Da wir es nun im Laktoserum natürlich nicht mit einer reinen Fermentlösung zu thun haben, sondern mit einer salzhaltigen und eiweifsreichen Flüssigkeit, so müssen wir also nach diesen von Biernacki gefundenen Thatsachen schon von vornherein auf eine gröfsere Resistenz etwaiger in diesem Serum enthaltener Fermente gefafst sein.

Hahn[16]) hat ferner gefunden, dafs die Hämodiastase bei 55° nicht inaktiviert wird, erst nach ½stündigem Erhitzen auf

60° geschwächt und bei 65—70° vernichtet wird. Noch resistenter zeigt sich das Parachymosin, ein von Bang[17]) aufgefundenes labähnliches Ferment, das unter bestimmten Bedingungen selbst bei Temperaturen von 75° einige Zeit wirksam bleibt. Papain wird in Lösung nach Harlay[18]) erst bei 75° geschwächt, bei 82,5° zerstört. Endlich soll das von Abelous und Biarnès[19]) studierte oxydierende Ferment in seiner Wirksamkeit von 0—60° zunehmen, bei 80° noch wirksam sein, um erst bei 100° zerstört zu werden. Diese Beispiele liefsen sich noch vermehren. — Übrigens ist auch das Laktoserum gegen höhere Temperaturen gar nicht besonders resistent, da es bereits durch ½stündiges Erwärmen auf 70—75° inaktiviert wird.

Irgendwelche zwingende Beweisgründe gegen den fermentativen Charakter der Laktoserumwirkung liegen also bis jetzt nicht vor; ebensowenig aber sind Gründe dafür aus den Befunden der erwähnten Autoren abzuleiten.

Um nun in dieser Richtung Anhaltspunkte zu gewinnen, untersuchte ich zunächst, unter welchen Bedingungen die Fällung des Kaseins durch das spezifische Laktoserum eintritt, bezw. ob dessen Wirksamkeit, wie die des Labfermentes, an die Anwesenheit von Kalksalzen gebunden ist oder nicht. Es lag dies um so näher, als Fuld und Spiro[20]) in ihrer oben zitierten Arbeit gefunden hatten, dafs das labende Agens des normalen Pferdeserums sich in dieser Beziehung genau ebenso verhält wie das eigentliche Labferment.

Meine Versuche mit Laktoserum, die sich in Tabelle I kurz zusammengestellt finden, führten genau zu demselben Resultate. In kalkfreien Kaseinlösungen rief das Serum keinerlei Fällung hervor; Zusatz von Kalciumchlorid hingegen liefs den Niederschlag in gewohnter Weise entstehen.*) Ferner konnte die Wirkung des Laktoserums durch Zusatz von oxalsaurem Ammon zur Milch, d. i. durch Ausfällung der Kalksalze, vollkommen auf-

*) Auch Hamburger hat in einer vor kurzem erschienenen Arbeit (Wiener klin. Wochenschr., 1901, Nr. 49) einen derartigen Versuch mitgeteilt.

gehoben werden. Die Anwesenheit von Kalksalzen ist also für die Wirkung des Laktoserums von ähnlicher Bedeutung wie für die des Labfermentes.

Tabelle Ia.

Immunserum von Kaninchen A und B, welche innerhalb 14 Tagen je 60 ccm Milch intraperitoneal erhielten.

	Immunserum	Chlorkalc. lösung	Oxals. Ammon.	
0,3 ccm Milch	0,5 ccm A	—	—	sofortige totale Fällung.
0,3 » »	0,5 » B	—	—	» » »
0,3 » »	0,5 » A	—	0,2 ccm	krystall. Niederschlag von oxalsaurem Kalk, keine Kaseinfällung.
0,3 » »	0,5 » B	—	0,2 »	
0,3 » »	0	—	0,2 »	
0,5 Ca freie Kaseinlösung	0,5 ccm A	—	—	0
0,5 » »	0,5 » B	—	—	0
0,5 » »	0,5 » A	0,5 ccm	—	totale Fällung.
0,5 » »	0,5 » B	0,5 »	—	» »
0,5 » »	0	0,5 » *)	—	0

Vielleicht ist es nicht überflüssig, wenn wir noch ausdrücklich betonen, dafs es sich hier nicht wie bei den Versuchen, welche Joos[21]) kürzlich über den Mechanismus der Agglutination veröffentlicht hat, um die Gegenwart geringer Salzmengen überhaupt handelt, sondern um die Gegenwart ganz bestimmter Salze, nämlich gewisser alkalischer Erden. Während dem entsprechend Joos mit dialysiertem (oder stark verdünntem) Serum experimentierte und bei dessen Einwirkung auf von den Salzen befreite Bakterienleiber keine Agglutination eintreten sah, dieselbe aber durch Zusatz sehr geringer Kochsalzmengen hervorrufen

*) Für diese und viele später anzuführende Versuche ist es von Wichtigkeit, stets Kontrollen anzusetzen, bei welchen die Kaseinlösung mit $CaCl_2$ allein zusammengebracht wird, da konzentriertere Kalklösungen leicht für sich allein, namentlich in der Hitze Fällungen hervorrufen können; man kann dies jedoch dadurch vermeiden, dafs man mit verdünnten Ca-Lösungen arbeitet, und dafs man dieselben erst zu der erkalteten Flüssigkeit zusetzt.

konnte, während ferner Friedberger*) bei neuerdings angestellten Nachuntersuchungen fand, daſs auch vielen anderen Salzen dieselbe Eigenschaft zukommt wie dem Kochsalz, haben wir stets das unverdünnte Serum angewendet, welches ja an sich genügende Mengen von Salzen, insbesondere von Kochsalz, enthält; ja, wir konnten sogar durch Zusatz von oxalsaurem Ammon die Fällung kalkhaltigen Kaseins verhindern. Übrigens ist leicht zu zeigen, daſs Zusatz von Natriumchlorid, Natriumphosphat, Ammoniumchlorid, zu einer Mischung des Laktoserums mit Ca-freiem Kasein ganz wirkungslos bleibt, daſs man jedoch mit Baryumchlorid den typischen Niederschlag hervorrufen kann. Magnesiumsulfat ist hierzu nicht geeignet. (Siehe die nachfolgende Zusammenstellung.)

Tabelle Ib.

Salzlösung	Lakto-serum	Ca-freies Kasein	
Chlornatrium	0,5	0,5	0
Chlorkalium	0,5	0,5	0
Chlorammonium	0,5	0,5	0
Natriumphosphat	0,5	0,5	0
Natriumacetat	0,5	0,5	0
Natriumnitrat	0,5	0,5	0
Kaliumnitrat	0,5	0,5	0
Jodkalium	0,5	0,5	0
Bromkalium	0,5	0,5	0
Rhodankalium	0,5	0,5	0
Chlorbaryum	0,5	0,5	Fällung
»	—	0,5	0
Chlorkalcium	0,5	0,5	Fällung
»	—	0,5	0
Magnesiumsulfat	0,5	0,5	0

Salze, die eiweiſsfällend wirken oder stark saure oder alkalische Reaktion zeigen, muſsten selbstverständlich ausgeschlossen werden.

Es scheint mir hier am Platze, einen Widerspruch aufzuklären, der sich scheinbar zwischen den Versuchsergebnissen verschiedener Autoren eingestellt hat.

*) Centralbl. f. Bakt., Bd. XXX, Nr. 8.

Während nämlich Wassermann und Schütze[22]) gefunden haben, daſs gekochte Milch nicht mehr durch Laktoserum (welches durch Injektion mit frischer Milch hergestellt worden war) gefällt wird, kam Moro zu genau dem entgegengesetzten Resultate. Ich hatte bei meinen Versuchen wiederholt Gelegenheit, mich über diesen strittigen Punkt zu orientieren, und ich kann im groſsen und ganzen Moros Angaben nur bestätigen. In einem einzigen Falle jedoch blieb die sonst prompt eintretende Reaktion aus, war aber sofort hervorzurufen, wenn man zu der betreffenden Milch etwas Chlorkalcium hinzufügte. Dieser zufällig gemachte Befund liefert wohl einen Fingerzeig dafür, worin die entgegengesetzten Angaben der genannten Autoren bei einem Phänomen, dessen Beobachtung so wenig Schwierigkeiten darbietet, ihren Grund haben mögen. Es ist nämlich seit langem bekannt, daſs die Milch durch anhaltendes Kochen ihre Fähigkeit, durch Lab koaguliert zu werden, einbüſst oder wenigstens einbüſsen kann, dieselbe auf Kalkzusatz aber wieder erlangt. Man bezieht diese Veränderung auf eine Verminderung des Gehaltes der Milch an löslichen Kalksalzen, die durch das Kochen bewirkt wird. Da wir nun gesehen haben, daſs die Kalksalze auch bei der Serumfällung der Milch eine wichtige Rolle spielen, so liegt es wohl nahe, die negativen Resultate, die Wassermann und Schulze bei gekochter Milch erhielten, in ganz analoger Weise zu interpretieren und also anzunehmen, daſs dieselben durch das Unlöslichwerden eines Teiles der Kalksalze der Milch beim Kochen bedingt waren. Daſs aber Moro und ich meist auch mit gekochter Milch unverminderte Kaseinfällung beobachten konnten, erklärt sich wohl in ungezwungener Weise durch einen gröſseren Gehalt der Grazer Milch an löslichen Kalksalzen, eine Annahme, die mit Rücksicht darauf, daſs sich in der Umgebung von Graz sehr harte, kalkreiche Wässer vorfinden, nicht unwahrscheinlich sein dürfte. Ist diese Erklärung richtig, dann müſste aber die Grazer Milch nach dem Kochen auch mit Lab, ohne Zusatz von Kalksalzen, deutliche Gerinnung geben, eine Folgerung, von deren Richtigkeit ich mich in der

That wiederholt ohne Schwierigkeit überzeugen konnte. Hiermit erscheinen mir die bestehenden Widersprüche in den Versuchsergebnissen der Autoren in befriedigender Weise aufgeklärt zu sein.

Wenn wir nun nach dieser kleinen Abschweifung wieder zu unserer Aufgabe zurückkehren und uns die Frage vorlegen, wie etwaige bei der Fällung des Kaseins mit Laktoserum entstehende Spaltungsprodukte nachzuweisen wären, so liegt es bei der schon erwähnten grofsen Ähnlichkeit dieses Prozesses mit der Labgerinnung wohl am nächsten, nach analogen Kaseinderivaten zu suchen, wie sie bei der letzteren gebildet werden. Bekanntlich hat Hammarsten gezeigt, dafs unter der Einwirkung des Labfermentes auf Kasein ein albumosenartiger Körper, das Molkeneiweifs, entsteht, welchem die folgenden Eigenschaften zukommen: er wird nicht gefällt durch Kochen mit verdünnter Essigsäure oder Salpetersäure, gibt bei Anstellung der Hellerschen Eiweifsprobe keine Spur eines opalescierenden Ringes; fällt nicht durch Cl, J, verdünntes Kupfersulfat, Sublimat, Eisenchlorid, Bleizucker, Essigsäure, Ferrocyankalium. Bleiessig erzeugt nur eine Opalescenz, keine Fällung. Biuretreaktion und Millonsche Reaktion fallen positiv aus, Essigsäure-Gerbsäure gibt eine reichliche weifse Fällung. Auch durch überschüssigen Alkohol läfst sich das Molkeneiweifs aus seinen Lösungen abscheiden.

Es war nun zu erwarten, dafs die von Pick[23]) zuerst angewendete Methode der fraktionierten Fällung der Eiweifskörper mit Ammonsulfat, welche sich bereits in der jüngsten Zeit bei der Erforschung verschiedener eiweifs-chemischer und biologischer Probleme aufserordentlich wertvoll und fruchtbar erwiesen hat, auch in unserem Falle gute Dienste leisten würde. Da ich jedoch über die Fällungsgrenzen des Molkeneiweifses mit Ammonsulfat keine Angaben in der Litteratur auffinden konnte, so mufste ich zunächst daran gehen, diese zu ermitteln.

III. Die Fällungsgrenzen des Molkeneiweifses.

Das Kasein, das den Ausgangspunkt meiner Versuche bildete, war aus Kuhmilch nach den Angaben Hammarstens dargestellt, mit einer kleinen, von Danilewsky-Radenhausen herrührenden Modifikation: 2 l Milch wurden mit etwa 8 l Wasser verdünnt, mit 10 ccm Eisessig gefällt, dekantiert, wiederholt mit vielem Wasser nachgewaschen, dann durch ein Tuch koliert und zwischen Filtrierpapier abgeprefst. Das Kasein wurde dann mit sehr verdünnter Ammoniaklösung*) in der Reibschale sorgfältig verrieben, auf etwa 2 l aufgefüllt und über Nacht stehen gelassen, wobei sich ein beträchtlicher Teil des Fettes an der Oberfläche absetzt. Die darunterstehende Kaseinlösung wird vorsichtig abgehebert, neuerdings mit Eisessig gefüllt und in der geschilderten Weise weiter behandelt.

Diese Procedur wurde nun dreimal hintereinander wiederholt, von einer vollständigen Entfettung des schliefslich erhaltenen Produktes im Ätherextraktionsapparate wurde abgesehen, da dieselbe für den vorliegenden Zweck nicht nötig erschien und da ja die Hauptmasse des Milchfettes ohnedies bei dem beschriebenen Verfahren entfernt wird.

Das so gewonnene Kaseinpräparat zeigte, wie aus Tabelle II hervorgeht, bei der stufenweisen Behandlung mit Ammonsulfat nahezu dieselben Fällungsgrenzen, welche Alexander[24]) in seiner Arbeit über das Kasein und seine peptischen Spaltungsprodukte festgestellt hat. Die Abscheidung des Kaseins begann bei 1,4 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung und war bei 3,4 bis 3,6 ccm vollendet; das klare Filtrat von dem Niederschlage gab bei weiterem Salzzusatz bis zur vollkommenen Sättigung weder Trübung noch Opalescenz mehr, ein Beweis, dafs die anderen Eiweifskörper der Milch vollkommen entfernt waren.

Versetzt man nun eine neutrale Lösung dieses Kaseins mit einigen Tropfen einer wirksamen Labessenz und etwas Chlorkalcium, erwärmt auf 40°, filtriert von dem abgeschiedenen Parakaseinkalk ab und engt das Filtrat zur Konzentrierung des

*) Unter Vermeidung alkalischer Reaktion.

Molkeneiweifses, das immer nur in relativ geringer Menge entsteht, auf ein Drittel bis ein Viertel des ursprünglichen Volumens ein, so erhält man jetzt bei der fraktionierten Fällung mit Ammonsulfat ein ganz anderes Bild.

Tabelle II.

Kuh-Kaseinlösung.

Lösung ccm	Ammon-sulfat	Wasser		Filtrat + 0,2 ccm Ammonsulfat nach 24 Std.
2	1,0	7,0	0	0
2	1,2	6,8	0	0
2	1,4	6,6	Spur von Opalescenz	0
2	1,6	6,4	» » »	0
2	1,8	6,6	Opalescenz	Spur von Opalescenz
2	2,0	6,0	Opalescenz stärker	Opalescenz
2	2,2	5,8	» »	»
2	2,4	5,6	Trübung	»
2	2,6	5,4	flockige Trübung	»
2	2,8	5,2	» »	»
2	3,0	5,0	» »	»
2	3,2	4,8	» »	»
2	3,4	4,6	» »	Spur von Opalescenz
2	3,6	4,4	» »	0
2	3,8	4,2	» »	0

Bei vollkommener Sättigung fällt keine weitere Fraktion.

Wie Tabelle III a zeigt, findet sich in unserer Flüssigkeit nunmehr eine Fraktion, welche bei 3,6 ccm (bei manchen Versuchen auch schon früher) unter minimaler Opalescenz auszufallen beginnt, und deren Abscheidung bei 5,8 ccm vollendet ist. Die jeweiligen Filtrate der einzelnen Fällungsstufen geben, mit 0,2 ccm Ammonsulfatlösung versetzt, von 3,6—4,2 ccm nur eine sehr geringe Opalescenz; besonders bei 4,0—4,2 ccm war dieselbe in einzelnen Fällen nur eben an der Grenze der Wahrnehmbarkeit, so dafs daran gedacht werden konnte, ob es sich nicht vielmehr um zwei getrennte Fraktionen handle. Erst von 4,4—4,6 ccm ward diese Opalescenz intensiver, um bei 4,8—5,0 ccm ihr Maximum zu erreichen. Da bekannt ist, dafs das Kasein bei der Labfällung nie vollständig abgeschieden wird, sondern dafs immer

noch Spuren von Parakasein gelöst zurückbleiben, so hatte die Vermutung, dafs diese supponierte erste Fraktion wenigstens zum Teil auf Parakasein zu beziehen sein könnte, a priori nichts Unwahrscheinliches an sich.

Tabelle IIIa.

Kuh-Kaseinlösung, mit Lab und $CaCl_2$ gefällt, auf $^1/_3$ Vol. eingeengt.

Lösung ccm	Ammonsulfat	Wasser		Filtrat + 0,3 ccm Ammonsulfat nach 24 Std.
4	3,2	2,8	0	0
4	3,4	2,6	0	0
4	**3,6**	2,4	Spur von Opalescenz	Spur von Opalescenz
4	**3,8**	2,2	starke Opalescenz	Opalescenz
4	**4,0**	2,0	Trübung	Spur von Opalescenz
4	**4,2**	1,8	›	Spur
4	**4,4**	1,6	›	Spur von Opalescenz
4	**4,6**	1,4	›	deutliche Opalescenz
4	**4,8**	1,2	›	starke flockige Trübung
4	**5,0**	1,0	flockige Trübung	starke Opalescenz
4	**5,2**	0,8	› ›	› ›
4	**5,4**	0,6	› ›	› ›
4	**5,6**	0,4	› ›	Spur von Opalescenz
4	**5,8**	0,2	› ›	› › ›
4	6,0	0,0	› ›	0
3	7,0	0,0	› ›	0
2	8,0	0,0	› ›	0

Auch bei vollkommener Sättigung fällt von 6,0 an keine weitere Fraktion.

Um daher für jeden Fall die Anwesenheit von Parakasein möglichst zu eliminieren, habe ich bei einer weiteren Versuchsreihe das kalkfreie Kasein der Labwirkung ausgesetzt und dann das entstandene Parakasein ohne Kalkzusatz durch verdünnte Essigsäure gefällt.

Das klare Filtrat wurde nun nach dem Neutralisieren, wie oben, stark eingeengt. Tabelle IIIb zeigt das Ergebnis dieser Versuche, welches, wie man sieht, nicht wesentlich von den früher besprochenen abweicht; nur erscheint die von 3,6—4,0 ccm eintretende Opalescenz noch geringer; in den Filtraten war bei Zusatz von 0,2 ccm Ammonsulfat kaum mehr eine Opalescenz

zu erzielen; erst von 4,2—4,4 ccm ab begann, wie bei den früheren Versuchen, eine stärkere Abscheidung.

Tabelle IIIb.

Kuh-Kaseinlösung, mit Lab auf 40° erwärmt, mit verd. Essigsäure gefällt, neutralisiert, auf 1/4 Vol. eingeengt.

Flüssigkeit	Ammonsulfat	Wasser		Filtrat + 0,2 ccm Ammonsulfat nach 24 Std.
4	3,2	2,8	0	0
4	3,4	2,6	0?	0?
4	3,6	2,4	Spur Opalescenz	Spur Opalescenz (?)
4	3,8	2,2	» »	» » (?)
4	4,0	2,0	Geringe Opalescenz	» »
4	4,2	1,8	Stärkere Opalescenz	Opalescenz
4	4,4	1,6	Trübung	Kräftige Opalescenz
4	4,6	1,4	»	Sehr starke Opalescenz
4	4,8	1,2	Flockige Trübung	Flockig ausfallende Trübg.
4	5,0	1,0	» »	Opalescenz
4	5,2	0,8	» »	»
4	5,4	0,6	» »	»
4	5,6	0,4	» »	Spur von Opalescenz
4	5,8	0,2	» »	» » »
4	6,0	0	» »	0
3,8	6,2	0	» »	0

Ob nun in der That minimale Spuren von Parakasein auch der Essigsäurefällung entgangen sind, ob es sich ferner wirklich um zwei verschiedene Fraktionen handelt oder nur um eine einzige, die nur die Eigenschaft besitzt, sich zwischen 3,6 und 4,2 ccm sehr spärlich abzuscheiden (wobei auch die immerhin geringe Konzentration unserer Molkeneiweifslösung eine Rolle spielen könnte), diese Fragen, welche mehr rein chemisches Interesse bieten, habe ich, als für unsere Zwecke von untergeordneter Bedeutung, nicht weiter verfolgt.*) Es genügt uns, zu wissen, dafs bei der Labkoagulation Substanzen abgespalten werden, deren Fällungsgrenzen höher liegen als die des Kaseins, welche das Maximum ihrer Abscheidung zwischen

*) Neuerdings angestellte Versuche, bei welchen eine konzentriertere Molkeneiweifslösung verwendet wurde, und das Parakasein durch NaCl-Sättigung weggeschafft wurde, scheinen allerdings für die Einheitlichkeit dieser Fraktion zu sprechen.

40 und 50% Ammonsulfat zeigen, und die bei 60% Ammonsulfat vollkommen aus ihrer Lösung ausgesalzen werden. Ohne daher etwas präjudizieren zu wollen, werde ich im folgenden den einheitlichen Namen »Molkeneiweifs« für diese Substanzen der Bequemlichkeit halber beibehalten.

Nun hat bekanntlich Hammarsten gezeigt, dafs diese Spaltung des Kaseins in Parakasein und Molkeneiweifs auch dann erfolgt, wenn die zur Ausfällung des Parakaseins notwendigen Mengen von Kalksalzen nicht zugegen sind; dafs dieselbe also mit der sichtbaren Abscheidung des Käses nichts zu thun hat. Man braucht, um dies zu erkennen, nur eine kalkfreie Kaseinlösung in zwei Portionen zu teilen, die eine Portion direkt mit Kochsalz auszusalzen, die andere erst nach Einwirkung des Labfermentes: man erhält dann nur in der zweiten Portion mit Essigsäure-Gerbsäure eine deutliche weifse Fällung von Molkeneiweifs, während die erste, labfreie Portion vollständig klar bleibt.

In sehr einfacher und eleganter Weise läfst sich nun die Präexistenz des Molkeneiweifses in der mit Lab versetzten und kurze Zeit bei 40° C. gehaltenen Ca-freien Kaseinlösung mit Hilfe der Ammonsulfatmethode nachweisen. Während, wie wir gesehen haben, vor der Einwirkung des Labfermentes alles Kasein unserer Lösung bei 3,6 ccm Ammonsulfat ausgefällt war, und das Filtrat auch bei Sättigung mit diesem Salze vollkommen klar blieb, zeigt Tab. IV, wie unter dem Einflufs dieses Fermentes, ohne sichtbare äufsere Veränderung, eine neue Fraktion aufgetreten ist, deren obere Grenze bei ca. 6,0 ccm liegt und somit vollständig mit der des Molkeneiweifses übereinstimmt.

(Siehe Tabelle IV auf S. 143.)

Besonders anschaulich lassen sich die Ergebnisse der fraktionierten Aussalzung darstellen, wenn man die Grenzen der einzelnen Fraktionen auf einer in 100 Teile geteilten Skala aufträgt und sich so ein »Fällungsspektrum« konstruiert, wie das in Fig. I geschehen ist. Man übersieht dann mit einem Blicke die Veränderungen, die infolge der Labwirkung in der Kaseinlösung zustande gekommen sind.

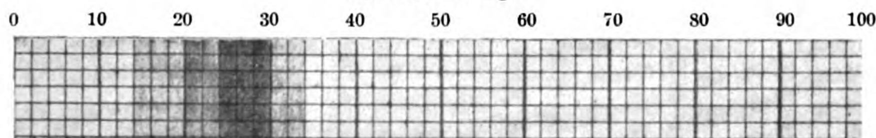
Tabelle IV.

Kaseinlösung und Lab (ohne $CaCl_2$) 10 Min. bei 40° gehalten.

Lösung ccm	Ammonsulfat	Wasser		Filtrat + 2 ccm Ammonsulfat.*)
4	3,6	2,4	Flockige Trübung	Starke Trübung
4	4,0	2,0	» »	» »
4	4,4	1,6	» »	» »
4	4,8	1,2	» »	Starke Opalescenz
4	5,2	0,8	» »	Schwache Opalescenz
4	5,6	0,4	» »	Spur Opalescenz
4	6,0	0	» »	0

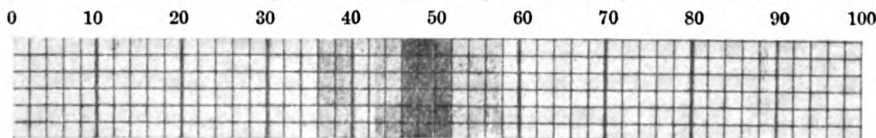
Kaseinlösung.

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100



Kaseinlösung, mit Lab gefüllt, abfiltriert, eingeengt.

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100



Dafs unsere, mit Hilfe der Pickschen Methode isolierte Fraktion alle Reaktionen des Molkeneiweifses zeigt, braucht nach dem Gesagten kaum mehr hervorgehoben zu werden. Erwähnen aber möchte ich, als für das Folgende von Wichtigkeit, dafs das Molkeneiweifs in $NaCl$ gesättigter Lösung auch durch starke Essigsäure und Salpetersäure gefällt wird.

Sollen wir uns nach alledem über die Stellung des Molkeneiweifses in dem von der Hofmeisterschen Schule ausgearbeiteten Systeme der Eiweifsspaltungsprodukte aussprechen, so müssen wir sagen, dafs dasselbe sowohl seinem Verhalten zu den gewöhnlichen Eiweifsreagentien als seinen Fällungsgrenzen nach

*) Da es sich hier nur um die Demonstration der Präexistenz des Molkeneiweifses, nicht aber um exakte Ermittelung von dessen Fällungsgrenzen handelte, wurde mit Rücksicht auf die geringe Konzentration desselben nicht, wie sonst, zum Filtrat 0,2 ccm Ammonsulfat hinzugefügt, sondern 2 ccm, wodurch die entstehenden Trübungen viel stärker ausfielen.

zu den sekundären Albumosen gehören dürfte, dafs dasselbe aber mit keinem der von Alexander beschriebenen peptischen Spaltungsprodukte des Kaseins vollständig zu identifizieren ist.

IV. Entsteht bei der Fällung des Kaseins mit Laktoserum Molkeneiweifs?

Zur Entscheidung dieser Frage wurde nun, unter Benutzung der eben gewonnenen Kenntnisse über die Fällungsgrenzen des Molkeneiweifses, der folgende Weg eingeschlagen. Etwa 100 ccm Serum von Kaninchen, welche durch längere Zeit mit Injektionen von gekochter Kuhmilch vorbehandelt worden waren, wurden mit geeigneten Mengen Kasein zusammengebracht. Da bei dem Nachweise des Molkeneiweifses die Eiweifskörper des Serums, die sich ja in ihren Fällungsgrenzen mit dem ersteren zum Teile decken, störend wirken mufsten, und daher ohnedies zu entfernen waren, so war es nicht notwendig, zu diesen Versuchen reines Kasein zu verwenden, sondern es genügte, einfach Milch zu dem Laktoserum hinzuzusetzen, deren Globuline und Albumine dann zugleich mit denen des Serums weggeschafft werden mufsten. Die Milch wurde nicht auf einmal zu dem Serum hinzugefügt, sondern in Portionen von je 10 ccm; hatte sich dann das Kasein in Form eines flockigen Niederschlages abgeschieden und begann es sich zu Boden zu senken, so wurde das Gemisch zentrifugiert, die klare Flüssigkeit von dem Koagulum abgegossen und von neuem mit Milch versetzt, bis keine Fällung mehr eintrat. Die Gesamtmenge der verwendeten Milch betrug 40—50 ccm.

Hierauf wurde mit destilliertem Wasser auf das 3—4 fache Volumen der Serummenge verdünnt, mit Essigsäure schwach angesäuert, und zur Entfernung der Hauptmasse der koagulablen Eiweifskörper auf dem Wasserbade erhitzt; das wasserklare, farblose oder leicht gelblich gefärbte Filtrat wurde dann mit der entsprechenden Menge gesättigter Ammonsulfatlösung auf 55—60% Sättigung gebracht und zur vollkommenen Abscheidung des entstehenden Niederschlages einige Zeit stehen gelassen. Dieser Niederschlag, welcher neben den der Koagulation entgangenen Globulinen auch das Molkeneiweifs enthielt, wurde dann auf

einem kleinen Filter gesammelt und in wenig (10—12 ccm) destilliertem Wasser gelöst. - Nach Herstellung schwach saurer [1]) Reaktion wurde Kochsalz in Substanz bis zur Übersättigung eingetragen und wieder auf das siedende Wasserbad gebracht, wobei sich nunmehr, unter dem begünstigenden Einflusse der grofsen Salzmengen der Rest der koagulablen Eiweifskörper fast vollständig abschied. Das Filtrat wurde stets auf seine Reaktion geprüft; war es etwas stärker sauer, so wurde mit verdünnter Natronlauge abgestumpft; war die saure Reaktion zurückgegangen und neutral geworden, so wurde wieder schwach angesäuert und neuerdings erhitzt; erst wenn auch nach 5—10 Minuten langem Erhitzen keine Trübung mehr auftrat, wurde die Flüssigkeit weiter auf die Anwesenheit von Molkeneiweifs untersucht.

Zur Kontrolle dienten zwei weitere Reihen von Versuchen, bei welchen an Stelle des spezifischen Laktoserums normales Kaninchenserum oder auch gelöstes käufliches »Rinderalbumin« (von E. Merk) zu derselben Milchmenge zugesetzt wurde. In der ersten dieser beiden Versuchsserien (A) wurde dabei die Fällung des Kaseins durch verdünnte Essigsäure, in der zweiten Serie (B) durch Labessenz bewerkstelligt.

Die endliche Prüfung der so erhaltenen Filtrate auf die Anwesenheit von Molkeneiweifs geschah in der Weise, dafs dieselben mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt wurden. Der eventuell entstehende Niederschlag wurde abfiltriert, gelöst und dann mit den gewöhnlichen Eiweifsreagentien, konzentrierter Salpetersäure, Essigsäure, Gerbsäure, Essigsäure-Ferrocyankalium, verdünnter Kupfersulfatlösung geprüft. Handelte es sich wirklich um Molkeneiweifs, so dürfte dann nur mit Gerbsäure eine dichte weifse Trübung entstehen, während die anderen Fällungsmittel die Flüssigkeit vollkommen klar lassen mufsten, oder doch nur Spuren von Fällung hervorrufen durften.

[1]) Eine stark essigsaure Reaktion mufs unbedingt vermieden werden, da, wie wir gesehen haben, das Molkeneiweifs in kochsalzgesättigter Lösung durch Essigsäure gefällt wird. Bei der schwachsauren Reaktion hingegen, wie dieselbe für die Hitzekoagulation der nativen Eiweifskörper am günstigsten ist, zeigt jedoch das Molkeneiweifs keine Spur von Trübung oder Opalescenz.

Betrachten wir nun die Ergebnisse dieser Versuche, so geht zunächst aus Tab. V—VIII hervor, dafs es mit der angewendeten Methodik in der That leicht gelingt, die koagulablen Eiweifskörper so vollständig zu entfernen, dafs mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung keine oder nur eine minimale Opalescenz mehr entsteht. Sind derartige Spuren koagulabler Eiweifskörper der Fällung entgangen, so geben auch die anderen Proteinreaktionen, welche dem Molkeneiweifs nicht zukommen, ganz schwach positive Ausschläge. Aber auch mit Essigsäure-Gerbsäure erhält man in solchen Fällen *nur äufserste Spuren von Opalescenz*, ganz im Gegensatz zu den unter B aufgeführten Versuchen (Tab. IX—XI), *bei welchen stets eine sehr intensive weifse Fällung* auftrat. Hingegen gab Essigsäure-Ferrocyankalium, verdünntes Kupfersulfat, konzentrierte Salpetersäure bei Versuchsreihe B wie bei A entweder keine oder nur spurenweise positive Reaktion. Ammonsulfat bis zur Halbsättigung zugesetzt, rief *starke flockige Fällung* hervor.

Tabelle V.

A. Fällung des Kaseins mit Essigsäure.

I. 50 ccm Normal-Kaninchenserum + 30 ccm Milch + 50 ccm Wasser, mit Essigsäure angesäuert, von dem Kasein abfiltriert, das Filtrat bei schwach saurer Reaktion gekocht. Filtrat 125 ccm; 152 ccm Ammonsulfat. Der Niederschlag in 12 ccm dest. Wasser gelöst, schwach angesäuert, mit Na Cl gesättigt, koaguliert, filtriert. Die Flüssigkeit gibt folgende Reaktionen;

gleiches Vol. Ammonsulfat	0
Essigsäure-Gerbsäure*)	0
Essigsäure-Ferrocyank. . .	0
konz. Salpetersäure . . .	0
verd. Kupfersulfat	0

Tabelle VI.

II. 50 ccm Rinderalbuminlösung + 30 ccm Milch + 50 ccm Wasser. Wie oben. Filtrat 120 ccm und 133 ccm Ammonsulfat. Niederschlag in 12 ccm Wasser gelöst, wie oben. Reaktionen:

gleiches Vol. Ammonsulfat	0
Essigsäure-Gerbsäure.	0
Essigsäure-Ferrocyank. . .	0
konz. Salpetersäure . . .	Spur?
verd. Kupfersulfat . . .	0

*) Vor Anstellung der Reaktion wird die Flüssigkeit stets mit dem 3fachen Vol. Wasser verdünnt, da Gerbsäure mit ges. Na Cl-Lösung für sich allein schon einen Niederschlag gibt.

Tabelle VII.

III. 50 ccm Normal-Kaninchenserum + 40 ccm Milch + 100 ccm Wasser mit Essigsäure gefällt, filtriert, koaguliert. Filtrat 160; und 195 Ammonsulfat. Der Niederschlag wie oben behandelt. Die Flüssigkeit gibt folgende Reaktionen;

gleiches Vol. Ammonsulfat .	Spur Opalescenz
Essigsäure-Ferrocyank. . . .	Spur von Trübung
Essigsäure-Gerbsäure .	Spur von Trübung
konz. Salpetersäure	Spur Opalescenz
verd. Kupfersulfatlösung . .	Spur Trübung.

Tabelle VIII.

IV. 205 ccm Normal-Kaninchenserum + 95 ccm Milch + 400 ccm Wasser; wie oben behandelt. Filtrat 550 ccm und 822 ccm Ammonsulfatlösung. Niederschlag in 50 ccm Wasser gelöst, bei schwach saurer Reaktion koaguliert, das Filtrat auf 60% Ammonsulfat gebracht, filtriert. Der Niederschlag in 12 ccm Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt. koaguliert. Das neuerliche Filtrat gibt folgende Reaktionen:

gleiches Vol. Ammonsulfat	Spur?
Essigsäure-Ferrocyank. . .	0
Essigsäure-Gerbsäure .	0 (Spur?)
verd. Kupfersulfatlösung .	0

Tabelle IX.

B. Fällung des Kaseins mit Lab.

I. 50 ccm Normal-Kaninchenserum + 30 ccm Milch + 50 ccm Wasser mit Lab bei 40° C. gefällt, filtriert, bei schwach saurer Reaktion auf dem Wasserbad koaguliert. Filtrat 110 ccm; + 134 ccm Ammonsulfat. Der Niederschlag in 12 ccm Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt, koaguliert; das Filtrat mit mehr als dem gleichen Vol. Ammonsulfat gefällt; in dest. Wasser gelöst, gibt der Niederschlag folgende Reaktionen:

konz. Salpetersäure . . .	0
Essigsäure-Ferrocyank. . .	Spur?
Essigsäure-Gerbsäure .	volumin. Fällung
verd. Kupfersulfatlösung .	Spur?
gleiches Vol. Ammonsulfat	flockige Fällung.

Tabelle X.

II. 50 ccm Rinderalbuminlösung + 50 ccm Milch + 50 ccm Wasser. Wie oben behandelt. Filtrat 130 ccm; + 158 ccm Ammonsulfatlösung. Der entstandene Niederschlag in 12 ccm dest. Wasser gelöst und in der oben angegebenen Weise weiter behandelt. Das Filtrat mit mehr als dem gleichen Vol. Ammonsulfat gefällt, der Niederschlag in dest. Wasser gelöst.

Derselbe gibt mit

konz. Salpetersäure . . .	0
Essigsäure-Ferrocyank. .	0
Essigsäure-Gerbsäure	dichte flockige Trübung
gleichem Vol. Ammonsulfat	Trübung
verd. Cu SO_4	0

Tabelle XI.

III. 50 ccm Rinderalbuminlösung + 40 ccm Milch + 100 ccm Wasser und Labessenz. Wie oben. Filtrat 170 ccm + 207 ccm Ammonsulfat; die Fällung in 12 ccm dest. Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt, bei ganz schwach saurer Reaktion gekocht, filtriert, das Filtrat mit mehr als dem gleichen Vol. Ammonsulfat gefällt, der Niederschlag in 10 ccm dest. Wasser gelöst. Derselbe gibt folgende Reaktionen:

konc. Salpetersäure . . .	0
Essigsäure-Ferrocyank. . .	0
verd. Cu SO_4	0
Essigsäure-Gerbsäure	dichte Trübung
gleiches Vol. Ammonsulfat	Trübung.

Man kann somit als Resultat dieser ersten beiden Versuchsreihen konstatieren, dafs die geübte Methodik bei Essigsäure Fällung des Kaseins unter den beschriebenen Modalitäten, speziell bei Anwesenheit von Serumeiweifskörpern, durchwegs negative Ergebnisse liefert, bei Labfällung jedoch mit Leichtigkeit gestattet, das gebildete Molkeneiweifs nachzuweisen, woraus sich wohl die Berechtigung ableiten läfst, dieses Verfahren zur Entscheidung der uns beschäftigenden Frage herzuziehen. Denn eine artifizielle Abspaltung von albumosenartigen Substanzen, welche von vornherein schon bei der unschädlichen, wenig eingreifenden Versuchsmethodik als sehr unwahrscheinlich bezeichnet werden mufste, erscheint nach obigen Versuchen vollständig ausgeschlossen.

Tabelle XII.

C. Fällung des Kaseins mit Laktoserum.

I. Kaninchen I, II und III erhalten innerhalb 3 Wochen je 80 ccm Milch (1/4 Stunde im Dampftopf sterilisiert) intraperitoneal injiziert. Blutentnahme 5 Tage nach der letzten Injektion.

120 ccm Serum + 40 ccm Milch; das Kasein wird vollständig gefällt; weiterer Zusatz von 10 ccm erzeugt nur sehr unvollständige Fällung.

310 ccm Wasser. Bei schwach essigsaurer Reaktion koaguliert. Filtrat 350 ccm, dazu 416 ccm ges. Ammonsulfatlösung. Die Fällung in 12 ccm Wasser gelöst, mit Na Cl gesättigt, bei schwachsaurer Reaktion gekocht, filtriert. Das Filtrat gibt

mit gleichem Vol. Ammonsulfat .	Spur von Opalescenz
Essigsäure-Ferrocyankal	Spur von Opalescenz
konz. Salpetersäure	Spur von Opalescenz
Essigsaure-Gerbsäure*) . . .	Spur von Opalescenz.

Tabelle XIII.

II. Kaninchen IV, V, VI, VII und VIII erhalten innerhalb 3 Wochen je 70 ccm Milch intraperitoneal. Blutentnahme 5 Tage nach der letzten Injektion.

264 ccm Serum und 85 ccm Milch; vollständige Fällung; bei Zusatz von weiteren 10 ccm partielle Fällung. 400 ccm Wasser. Bei schwach saurer Reaktion koaguliert. Filtrat: 483 ccm dazu 624 ccm Ammonsulfat. Der Niederschlag in 50 ccm Wasser gelöst, koaguliert, filtriert; das Filtrat nochmals mit gleichem Volumen Ammonsulfat versetzt, der Niederschlag in 12 ccm Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt und bei schwach essigsaurer Reaktion gekocht.

Reaktionen:

gleiches Vol. Ammonsulfat	Spur Opalescenz
Essigsäure-Ferrocyankal.	0? (Spur)
konz. Salpetersäure	0? (Spur)
Essigsäure-Gerbsäure	Spur Opalescenz (?)

Tabelle XIV.

III. Kaninchen IX, X und XI erhalten innerhalb 3 Wochen je 80 ccm Milch; Blutentnahme 4 Tage nach der letzten Injektion.

120 ccm Serum und 40 ccm Milch; vollständige Fällung; weitere 10 ccm werden nur sehr unvollständig gefällt; 250 ccm Wasser. Koaguliert. Filtrat 325 ccm; dazu 397 ccm Ammonsulfatlösung. Der Niederschlag in 12 ccm Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt, gekocht. Das Filtrat zeigt folgende Reaktionen:

gleich. Vol. Ammonsulfat . .	sehr schwache Opalescenz
Essigsäure-Ferrocyankal. . .	Spur (?)
konz. Salpetersäure	Spur (?)
Essigsäure-Gerbsäure .	Spur(?) von Trübung.

Was nun endlich die dritte Versuchsreihe betrifft, bei welcher das Kasein durch Laktoserum gefällt wurde (C), so ergab dieselbe völlig negative Resultate. Hierdurch ist unsere Frage in verneinendem Sinne entschieden, und wir müssen somit behaupten,

*) Mit dem 3 fachen Volumen Wasser verdünnt, wie bei allen Versuchen.

dafs in dem Gemische von Milch und Laktoserum ein Spaltungsprodukt von den Eigenschaften des Molkeneiweifses nicht nachzuweisen ist. Damit ist ein weiterer, und zwar fundamentaler Unterschied zwischen der Wirkungsweise des Labfermentes und des Laktoserums festgestellt.

Ein Argument gegen die Fermentnatur des wirksamen Bestandteils im Laktoserum läfst sich jedoch auch aus diesen Versuchen nicht entnehmen, da ja noch immer die Möglichkeit offen bleibt, dafs andere, mit der geübten Methodik nicht nachweisbare Spaltungsprodukte gebildet werden, oder dafs das Kaseinmolekül als solches — ohne Abspaltung kleinerer Bruchstücke — eine fermentative Umwandlung erfährt.

V. Eigenschaften des Lactoserum-präcipitates.

Ich wendete mich nun dem Studium des Präcipitates zu, das bei der Einwirkung des Laktoserums auf Kasein entsteht. Da, wie Moro gefunden hat, dieses Präcipitat beim Erwärmen in physiologischer Kochsalzlösung sich zum gröfsten Teile auflöst, so war es zunächst von Interesse, das Verhalten einer derartigen Lösung zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke wurde eine gröfsere Menge des Niederschlages, der von einem der im vorigen Abschnitt der beschriebenen Versuche herrührte, mit dem 20 fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung versetzt, abzentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen, und diese Prozedur noch weitere 3 mal wiederholt, so dafs die Eiweifskörper des Laktoserums nach Möglichkeit entfernt wurden. Dabei zeigte sich, dafs das Waschwasser auch beim vierten Male nicht klarer wurde, sondern starke Opalescenz aufwies, ein Beweis, dafs schon in der Kälte ein Teil des Präcipitates in Lösung ging. Dasselbe wurde dann, mit einer geringen Menge Chlornatriumlösung versetzt, auf das kochende Wasserbad gebracht, wobei sich der weitaus gröfste Teil vollkommen löste, während nach dem Zentrifugieren nur einige gerinnselartige Flocken zurückblieben. *)

*) Bemerkt sei, dafs Zusatz von überschüssigem $CaCl_2$ die Auflösung des Präcipitates verhindert; wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, handelt

Ich untersuchte nun zunächst das Verhalten dieser Lösung gegenüber unseren beiden kaseinfällenden Agentien: gegen Labferment und gegen Laktoserum. Es ergab sich dabei der überraschende Befund, dafs unsere Lösung durch beide Fällungsmittel in typischer Weise koaguliert wurde. Dabei war einige Male ein Zusatz von etwas Kalciumchloridlösung notwendig, meist aber war derselbe überflüssig. Stets überzeugte ich mich natürlich im ersteren Falle, dafs unter den gleichen Bedingungen (spez. der Temperatur) Kalciumchlorid allein keine Fällung hervorbrachte. Wie beim Kasein, trat die Koagulation durch das Laktoserum schon bei gewöhnlicher Temperatur ein, durch das Labferment erst nach kurzdauerndem Erwärmen auf ca. 40°. *)

Man kann, wie ich glaube, dieser Thatsache kaum eine andere Deutung geben, als dafs unsere Lösung unverändertes Kasein enthält, eine Anschauung, die noch durch die folgenden Versuche wesentlich an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

Zunächst suchte ich die Fällungsgrenzen des in Lösung gegangenen Körpers zu bestimmen, nachdem ich mich überzeugt hatte, dafs derselbe durch Kochsalzsättigung (wie Kasein) vollkommen abgeschieden wird, und dafs in dem Filtrate von dem entstandenen Niederschlage durch Ammonsulfat keine Trübung oder Opalescenz mehr ensteht. Wie man aus Tab. XV entnimmt, ist die obere Fällungsgrenze der fraglichen Substanz vollständig mit der des Kaseins identisch. Die untere Grenze konnte hingegen, da die Flüssigkeit nur sehr schwer klar filtrierte, nicht genau ermittelt werden, lag aber jedenfalls zwischen 1,0 und 2,0 ccm, während eine sichtbar stärkere Fällung wie beim Kasein erst bei 2,0—2,2 einsetzte.

---

es sich hierbei um dasselbe Phänomen, das man beobachtet, wenn man eine Kaseinlösung mit viel $CaCl_2$ erhitzt: nämlich um eine Ausfällung des abgespaltenen Kaseins.

*) Ist der Zusatz von Ca-Salzen notwendig, so ist es vorteilhaft, dieselben erst nach Abkühlung der mit Lab versetzten Flüssigkeit hinzuzufügen.

Tabelle XIVa.

Laktoserum-Präcipitat, durch Kochen gelöst.

Lösung	Ammon-sulfat	Wasser		Filtrat + 0,2 ccm Ammon-sulfat
2	2	6	zunehmende Trübung	geringe Opalescenz
2	2,2	5,8	» »	deutliche Opalescenz
2	2,4	5,6	» »	Opalescenz
2	2,6	5,4	flockige Fällung	»
2	2,8	5,2	» »	»
2	3,0	5,0	» »	»
2	3,2	4,8	» »	»
2	3,4	4,6	» »	» ?
2	3,6	4,4	» »	0?
2	3,8	4,2	» »	0

Auch bei vollkommener Sättigung mit Ammonsulfat keine Opalescenz.

Noch beweisender scheinen uns jedoch die folgenden Experimente zu sein, welche, von nachstehender Erwägung ausgehend, unternommen wurden: Enthält unsere Lösung des Laktoserum-Präcipitates wirklich Kasein und ist die Koagulation derselben bei Zusatz von Labferment in der Wärme als echte Labgerinnung aufzufassen, dann mufs es auch gelingen, nachzuweisen, dafs bei derselben Molkeneiweifs gebildet wird. Die Methodik dieser Versuche, welche sich in Tabelle XV und XVI wiedergegeben finden, ist dieselbe, die wir schon früher angewendet haben, als wir die Frage nach der Abspaltung eines derartigen Körpers bei der Laktoserumfällung zu entscheiden suchten. Wie man sieht, ergaben diese Versuche ein positives Resultat, so dafs man wohl berechtigt ist, nach allen ihren chemischen und biologischen Eigenschaften die durch Kochen des Präcipitates in Lösung gegangene Substanz als Kasein anzusprechen. Es mag hervorgehoben werden, dafs wir uns wohl bewufst sind, für die Regeneration des Kaseins aus dem Laktopräcipitat keinen absolut sicheren, sondern nur einen Wahrscheinlichkeitsbeweis geliefert zu haben. Jedoch ist derzeit wohl ein anderer Beweis kaum zu erbringen, und ist insbesondere von einer rein chemischen Analyse, etwa der elementaren Zu-

sammensetzung, kaum Aufschlufs zu erwarten. Im Gegenteile scheint uns gerade das gedachte Verhalten gegenüber Fermenten und spezifischem Serum mehr Garantie für die Integrität des Kaseinmoleküls zu bieten, als sie etwa die Übereinstimmung des prozentischen C, N, S, P Gehaltes der fraglichen Substanz mit dem Kasein gewähren könnte.

Tabelle XV.

Kaninchen XII, XIII, XIV erhalten innerhalb 14 Tagen je 60 ccm Milch intraperitoneal. Blutentnahme 5 Tage nach der letzten Injektion.

90 ccm Serum und 40 ccm Milch; der Niederschlag abzentrifugiert, 3 mal hintereinander mit etwa der 10 fachen Menge physiol. NaCl-Lösung gewaschen, dann durch Kochen gelöst. Zu der gesamten Flüssigkeit (40 ccm) 12 Tropfen Labessenz zugesetzt, koaguliert, der Niederschlag abzentrifugiert, die opalescente Flüssigkeit mit NaCl gesättigt und bei schwach essigsaurer Reaktion am Wasserbade gekocht. Dann das klare Filtrat mit mehr als dem gleichen Volum Ammonsulfat versetzt, der Niederschlag in 15 ccm dest. Wasser gelöst, mit NaCl gesättigt und abermals auf das Wasserbad gebracht, wobei kaum eine Trübung mehr eintritt. Das Filtrat gibt mit

geichem Vol. Ammonsulfat . .	starke flockige Trübunng
Essigsäure-Ferrocyankal.	0
Essigsäure-Gerbsäure	dichte Trübung
verd. Kupfersulfat	0.

Zum Vergleich wurden 12 Tropfen Labessenz in 15 ccm Wasser gelöst: dieselben gaben mit Ammonsulfat kaum eine Spur von Opalescenz, mit Gerbsäure nur ganz schwache Trübung.

Tabelle XVI.

Kaninchen XV, XVI, XVII erhalten innerhalb 14 Tagen je 60 ccm Milch intraperitoneal injiziert. 5 Tage später Blutentnahme.

70 ccm Serum und 30 ccm Milch; der Niederschlag abzentrifugiert, mit viel Kochsalzlösnng 3 mal ausgewaschen, dann durch Kochen gelöst. Durch Zusatz von 12 Tropfen Labessenz koaguliert, das Koagulum abzentrifugiert die Flüssigkeit in der Hitze mit Kochsalz gesättigt, nach dem Erkalten filtriert (20 ccm) und mit dem gleichen Volum Ammonsulfatlösung versetzt. Es entsteht eine starke Trübung. (20 ccm dest. Wasser und 12 Tropfen Labessenz zeigen kaum eine merkliche Opalescenz bei Halbsättigung mit Ammonsulfat.) Dieselbe wird abfiltriert, in 10 ccm Wasser gelöst, mit NaCl bei schwach essigsaurer Reaktion gekocht, wobei sich nur mehr Spuren eines Niederschlages abscheiden; das Filtrat gibt

mit gleichem Volum Ammonsulfat:	intensive Fällung
Essigsäure-Gerbsäure:	» »
Essigsäure-Ferrocyankal.	0?
verd. Kupfersulfatlösung	0

Es sind die Experimente übrigens noch von einem anderen Gesichtspunkte aus von Interesse. Dieselben bilden nämlich eine sehr willkommene Bestätigung und zugleich die Erklärung für die Thatsache, dafs in dem Gemisch von Milch und Laktoserum kein Molkeneiweifs nachzuweisen war; der Grund davon ist einfach der, dafs dieser Komplex bei der Serumfällung aus dem Kaseinmolekül überhaupt gar nicht abgespalten wird, sondern in demselben unverändert zurückbleibt, weshalb er dann noch nachträglich aus dem Präcipitate durch das Labferment abgetrennt und freigemacht werden kann.

Diese Regeneration des Kaseins aus dem Serumpräcipitat durch Hitzeeinwirkung steht in sehr bemerkenswerter Analogie zu gewissen, schon lange bekannten Erfahrungen, die man an Gemischen von Toxinen und Antitoxinen gemacht hat, und gestattet die nahe Verwandtschaft der Antitoxine mit den Präcipitinen von einer neuen Seite zu beleuchten. Calmette[25]) hat gezeigt, dafs aus einem inaktiven Gemisch von Schlangengift und Gegengift die ursprüngliche toxische Wirkung des ersteren durch Erwärmen auf 68° wiederhergestellt werden kann, indem nur das labilere Antitoxin zerstört wird, das resistentere Toxin aber erhalten bleibt und freigemacht wird. Ähnlich verhält es sich, wie Wassermann[26]) gefunden hat, auch mit dem Pyocyaneustoxin, das bei 100° keine Veränderung erleidet, während sein Antitoxin aus der neutralen Verbindung beider abgespalten und zerstört wird. Wie man sieht, handelt es sich in beiden Fällen um genau denselben Vorgang, den wir beim Kasein beobachten konnten nur mit dem Unterschiede, dafs sich bei dem letzteren an die Regeneration ein grobsinnlich wahrnehmbares Phänomen, das in Lösunggehen des Kaseins anschliefst, während bei den erwähnten Toxinen nur der Tierversuch die erfolgte Wiederherstellung der giftigen Wirkung erkennen läfst.

Man wird vielleicht geneigt sein, hier eine Beobachtung heranzuziehen, welche Bail[27]) beim Studium der Typhusagglutination vor kurzem gemacht hat. Bail erzeugte durch Vermischen von Typhusbouillonfiltraten mit Immunserum die spezifischen

Kraus schen Niederschläge, befreite dieselben durch wiederholtes Centrifugieren und Auswaschen nach Möglichkeit von den anhaftenden Flüssigkeitsresten und spritzte dieselben dann Kaninchen ein. Es ergab sich, dafs das Serum der Versuchstiere schon nach zweimaliger Injektion sehr hohe Agglutinationswerte annahm, woraus Bail den Schlufs zog, dafs die injizierten Präcipitate im Tierkörper eine Zerlegung erleiden und aus ihnen Bestandteile der Bakterienleiber frei werden, welche die Agglutininbildung auslösen. Da jedoch, wie Bail in derselben Arbeit gefunden hat, die Agglutinine nicht mit den Präcipitinen identisch sind und sich von denselben experimentell trennen lassen, so ist die Analogie mit unserer Beobachtung nur eine ziemlich unvollständige; vollständig wäre sie erst dann, wenn im Serum der behandelten Tiere neben den Agglutininen auch Präcipitine auftreten würden, worüber Bail leider keine Mitteilung gemacht hat.

Hingegen mufs hier noch an die jüngst veröffentlichte Arbeit von Neisser und Lubowski[28]) erinnert werden, welche in einigen Fällen durch Injektion spezifisch agglutinierter Typhusbacillen Agglutininbildung bei ihren Versuchstieren auslösen konnten, während diese Reaktion in der weitaus gröfseren Mehrzahl der Fälle ausblieb. Verfasser nehmen an, dafs einzelnen Tieren die Fähigkeit zukomme, die Verbindung des Agglutinins mit dem Bakterienrezeptor zu sprengen, und so den Rezeptor wieder frei, d. i. wirksam zu machen, was jedoch nie in vollem Umfange geschehe.

Bemerkt sei übrigens, dafs aus diesen Versuchen von Bail und Neisser und Lubowski streng genommen nur auf eine Regeneration der ursprünglichen Rezeptorgruppen, nicht aber auf eine solche der ganzen chemischen Individuen geschlossen werden kann, welche Träger dieser Gruppen sind; denn mit der Ehrlich schen Theorie wäre es ganz gut vereinbar, wenn diese Träger der Rezeptorgruppen bei dem Vorgange der Agglutination, oder bei ihrer weiteren Verarbeitung in dem tierischen Organismus, dem sie einverleibt wurden, beliebige Veränderungen erleiden würden, vorausgesetzt nur, dafs die

Rezeptorgruppen selbst dabei intakt blieben. Wäre diese Bedingung erfüllt, dann müfste es, wie bei den Versuchen der genannten Autoren, zur Agglutininbildung kommen. In der That haben nun Dreyer und Madsen[29]) bei einer anderen Gruppe von Immunsubstanzen, nämlich bei den Antitoxinen, eine Beobachtung gemacht, welche ganz in dem hier besprochenen Sinne zu deuten ist. Sie immunisierten Tiere mit Diphtherietoxonen, also mit Substanzen, von denen man Grund hat, anzunehmen, dafs sie eine haptophore Gruppe mit dem Diphtherietoxin gemeinsam haben, sich jedoch durch die toxophore Gruppe von demselben unterscheiden. Trotzdem nun also Toxon und Toxin verschiedene Substanzen sein müssen, wie ja aus ihrer verschiedenen biologischen Wirkung hervorgeht, war in dem Serum der behandelten Tiere ein Antitoxin nachweisbar, das sich gegen beide genannten Gifte richtete und sich wie echtes Diphtherieantitoxin verhielt. Man mufs daraus folgern, dafs die Antikörperbildung wesentlich nur von der Integrität der haptophoren Gruppen abhängt, ohne an die Beschaffenheit des übrigen Teiles der immunisierenden Substanz gebunden zu sein. Umgekehrt läfst sich dann aber aus der Thatsache der eingetretenen Produktion von Antikörpern logischerweise nur auf die Intaktheit der Rezeptorgruppen zurückschliefsen, während sich über den Rest der immunisierenden Substanz nichts aussagen läfst. — Erst unsere Erfahrungen an dem Laktopräcipitate machen somit, wie wir gesehen haben, eine vollständige Restitutio ad integrum des gefällten Kaseins mit allen seinen chemischen und biologischen Eigenschaften wahrscheinlich. — Nach einer eben erschienenen Publikation von Eisenberg und Volk[30]) verhalten sich übrigens agglutinierte Bakterien Temperaturen von 80° bis 100° gegenüber wesentlich anders als unser Präcipitat. Zwar werden dieselben durch die Wärme desagglutiniert (ähnlich wie unser Niederschlag in Lösung geht), sie werden jedoch »weder spontan, noch nach Zusatz frischen Serums reagglutiniert«.

Während nun aus den bisher angeführten fremden und eigenen Versuchen zu entnehmen ist, dafs aus dem Reaktionsprodukte der immunisierenden Substanzen (Toxinen, Bakterienleiber, Kasein) mit dem spezifischen Immunserum die ersteren durch geeignete chemische Prozeduren oder durch den tierischen Organismus wiederhergestellt werden können, haben sich Hahn und Trommsdorff[31]) bemüht, aus agglutinierten Bakterien die Agglutinine, also die in die Reaktion eingetretene Komponente des Serums, zu isolieren, und zwar mit Erfolg. Es gelang ihnen dies in einfacher Weise dadurch, dafs sie verdünnte Säuren und Alkalien auf die mit Kochsalzlösung wiederholt ausgewaschenen agglutinierten Mikroorganismen einwirken liefsen.

Ganz analog kann man nun auch, wie ich gefunden habe, aus dem Laktoserumpräcipitate das Präcipitin wenigstens zum Teile wieder gewinnen. Ich schwemmte den gut ausgewaschenen Niederschlag in etwas physiologischer Kochsalzlösung auf, säuerte mit verdünnter Essigsäure an — jedoch nicht so stark, dafs der Niederschlag in Lösung ging, was bei Zusatz von zu viel Essigsäure leicht geschieht — und liefs einige Stunden in der Kälte stehen. Dann wurde centrifugiert, die nur wenig opalescente Flüssigkeit von dem Bodensatz abgegossen und neutralisiert, resp. ganz schwach alkalisch gemacht. Nach Zusatz von etwas Kalciumchloridlösung wurde vorsichtig tropfenweise Milch hinzugefügt: Schon innerhalb weniger Minuten begannen sich in der Flüssigkeit kleinste Kaseinflöckchen zu bilden, und im Laufe einer Stunde hatte sich die zuerst stark trübe Flüssigkeit geklärt und sich ein reichlicher, weifser Niederschlag gebildet. Als Kontrolle diente das letzte Waschwasser des Präcipitates, das in ganz derselben Weise mit Kalciumchlorid und Milch versetzt wurde, aber selbst nach 24 Stunden keine Spur einer Kaseinfällung erkennen liefs. (Siehe Tabelle XVII auf S. 158.)

Damit ist der immerhin mögliche Einwand im vorhinein widerlegt, dafs die beobachtete Wirkung von mangelhaft entfernten, dem Niederschlage anhaftenden Serumresten hergerührt haben könnte, und es ist der Nachweis geliefert, dafs auch das

Kaseinfällende Agens ohne Verlust seiner koagulierenden Eigenschaft aus dem Präcipitate wieder restituiert werden kann. Dafs die Ausbeute dabei keine quantitative sein kann, ist bei dem ziemlich gewaltsamen Extraktionsverfahren wohl selbstverständlich.

Tabelle XVII.

Kaninchen XXV erhält innerhalb 14 Tagen 65 ccm Milch. Das Serum (30 ccm) wird mit 10 ccm Milch versetzt, nach eingetretener Fällung centrifugiert, der Niederschlag 3 mal mit NaCl-Lösung gewaschen.

A	B
Der Niederschlag wird mit 20 ccm phys. NaCl-Lösung versetzt und mit Essigsäure stark angesäuert. 2 Std. in der Kälte (bei Zimmertemperatur), dann centrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen, neutralisiert, und 2 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Milch hinzugefügt.	20 ccm des letzten Waschwassers mit Essigsäure gleichstark angesäuert wie A; 2 Std. bei Zimmertemperatur. Dann neutralisiert und 2 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Milch hinzugefügt.
Resultat: Flockige Fällung schon nach 20 Min. völlig abgeschieden.	Resultat: Keine Fällung, auch nach 24 Std.

Kaninchen XXVII erhält innerhalb 14 Tagen 70 ccm Milch intraperitoneal. 35 ccm Serum und 12 ccm Milch; nach eingetretener Fällung centrifugiert und 3 mal mit NaCl-Lösung gewaschen.

A	B
Der Niederschlag mit 20 ccm phys. NaCl-Lösung versetzt, stark angesäuert, bleibt 4 Std. in der Kälte stehen. Die Flüssigkeit abcentrifugiert, neutralisiert, mit 2 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Milch versetzt.	20 ccm des letzten Waschwassers mit gleichviel Essigsäure versetzt wie A; 4 Std. bei Zimmertemperatur, dann neutralisiert. Dazu: 2 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Milch.
Resultat: Flockige Fällung. Flüssigkeit klar.	Resultat: Keine Fällung. Flüssigkeit nach 24 Std. trübe.

Nachdem wir uns nun überzeugt haben, dafs die beiden bei der Laktoserumwirkung beteiligten Komponenten, das Kasein wie das Präcipitin, unverändert in den Niederschlag eintreten und aus demselben wiedergewonnen werden können, nachdem wir ferner oben gesehen haben, dafs die Anwesenheit von Kalksalzen für die Entstehung der Niederschläge notwendig ist, so liegt es nahe, sich die weitere Frage vorzulegen: Tritt diese Verbindung von Kasein und Präcipitin auch ein, wenn keine Kalksalze zugegen sind, oder vereinigen sich beide Körper erst unter dem Einflusse dieser letzteren?

Für die Agglutinine hat Joos[32]) diese Frage in dem Sinne entscheiden können, dafs deren Bindung durch die Bakterienleiber ganz unabhängig davon erfolge, ob Kochsalz zugegen sei oder nicht.

Dasselbe gilt nun auch für das Laktoserum. Ich ermittelte, um dies festzustellen, zunächst jene maximale Menge einer gegebenen kalkfreien Kaseinlösung, welche durch 2 ccm eines bestimmten Immunserums unter Kalkzusatz eben noch gefällt wurde. Dann wurde eine etwas gröfsere Menge als die eben gefundene zu 2 ccm des Serums hinzugefügt und (ohne Zusatz von Kalk) etwa 15 Minuten stehen gelassen, so dafs die eventuell eintretende Bindung des Präcipitins an das Kasein genügende Zeit hatte, vor sich zu gehen; durch vorsichtigen, tropfenweisen Zusatz verdünnter Essigsäure wurde dann das Kasein (resp. dessen Verbindung) gefällt, rasch centrifugiert, die klare Flüssigkeit abgegossen und neutralisiert. War nun das Präcipitin an das Kasein gebunden und mit diesem durch die verdünnte Essigsäure gefällt worden, so durfte die Flüssigkeit kein nachweisbares Präcipitin mehr enthalten. In der That trat auf Zusatz von etwas Kalciumchlorid und eines aliquoten Teils der ermittelten maximalen Kaseinmenge keine Fällung mehr auf. Dafs die Prozedur des Ansäuerns und Neutralisierens an und für sich keine Zerstörung oder Fällung des Präcipitins bewirkte und also den negativen Ausfall dieser Versuche nicht bedingen konnte, geht aus den entsprechenden Kontrollversuchen hervor, bei welchen die Serum-

menge (2 ccm) statt mit Kasein mit der gleichen Quantität destillierten Wassers versetzt wurde, mit ebenso vielen Tropfen der Essigsäurelösung angesäuert und dann wieder neutralisiert wurde. *) Stets war hier mitt Leichtigkeit die Anwesenheit des Präcipitins in der Flüssigkeit nachzuweisen.

Untersucht man ferner den mit Essigsäure ausgefällten Niederschlag, so findet man, dafs sich derselbe beim Neutralisieren vollkommen auflöst, durch Zusatz einiger Tropfen verdünnter Kalciumchloridlösung — welche die ursprüngliche Kaseinlösung nicht verändern — jedoch wieder gefällt wird. Dieser Niederschlag kann somit nicht aus dem unveränderten Kasein, sondern mufs aus der Kasein-Präcipitinverbindung bestehen. Aus dem Ergebnisse dieser beiden Versuchsreihen, welche miteinander vollkommen harmonieren, mufs man den Schlufs ziehen, dafs zu der Verbindung des Präcipitins mit dem Kasein die Anwesenheit der Kalksalze durchaus nicht erforderlich ist.

Sehr interessant ist nun, dafs im Gegensatze zum kalkfreien Kasein das kalkfreie Labparakasein nicht mehr die Fähigkeit besitzt, die wirksame Substanz des Laktoserums zu binden. Stellt man sich nämlich aus einer Lösung von Kasein durch Einwirkung von Labferment bei 40° das Parakasein dar, fällt dasselbe durch verdünnte Essigsäure und löst den Niederschlag in verdünnter Natronlauge zu neutraler Reaktion wieder auf, so kann man von dieser Lösung selbst gröfsere Mengen zu einer gegebenen Serumquantität zusetzen, als der ursprünglichen zur Bindung des Präcipitins ausreichenden Kaseinmenge entspricht, ohne dafs das Serum seine fällende Kraft verliert. Ich gebe in der folgenden Tabelle zwei dieser Versuchsreihen in extenso wieder. (XVII, XVIII.) Man mufs also annehmen, dafs durch die Labwirkung gerade jene Molekülgruppe zerstört oder abgespalten wird,

*) Das Centrifugieren unterblieb bei den Kontrollversuchen, da die Flüssigkeit sich beim Ansäuern nicht wesentlich getrübt hatte. Man kann sich leicht davon überzeugen, dafs die im ersten Moment des Ansäuerns ausfallenden Globuline längst wieder vollkommen gelöst sind, bevor das Kasein sich abzuscheiden beginnt.

welche die Verbindung mit dem Präcipitin vermittelt.*)

Diese Versuche beweisen zugleich, dafs das Verschwinden des Präcipitins aus der kaseinhaltigen Flüssigkeit bei der Fällung mit Essigsäure nicht etwa durch ein blofs mechanisches Mitgerissenwerden mit dem Niederschlage zu erklären sein kann, da dasselbe Phänomen ja sonst auch bei den Experimenten mit Parakasein hätte beobachtet werden müssen.

Tabelle XVIII.

Kaninchen XXXI erhielt innerhalb 14 Tagen 60 ccm Milch intraperitoneal. Zu dem Versuche diente eine kalkfreie Kaseinlösung.

A	B	C
—	25 ccm Kaseinlösung mit Lab auf 40° erwärmt, dann mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag in 20 ccm verdünnter Lauge gelöst, neutralisiert.	—
2 ccm Serum + 6 ccm Kaseinlösung 1/4 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit 20 Tropfen sehr verdünnter Essigsäure gefällt. Abcentrifugiert, die klare Flüssigkeit neutralisiert.	2 ccm Serum + 6 ccm Parakaseinlösung 1/4 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit 20 Tropfen sehr verdünnter Essigsäure gefällt. Abcentrifugiert, die klare Flüssigkeit neutralisiert.	2 ccm Serum + 6 ccm H_2O. Nach 1/4 Std. langem Stehen mit 20 Tropfen verdünnter Essigsäure versetzt. Keine Trübung oder Fällung. Neutralisiert.
Hinzugesetzt: 1 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Kaseinlösung.	Hinzugesetzt: 1 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Kaseinlösung.	Hinzugesetzt: 1 ccm $CaCl_2$ und 1 ccm Kaseinlösung.
Resultat: Keine Fällung; noch nach 24 Std. homogen, ohne Bodensatz.	Resultat: Fällung des Kaseins.	Resultat: Fällung des Kaseins.

*) Bei Anwendung eines grofsen Überschusses (der 3—4 fachen Menge) an Parakasein kommt allerdings doch eine Bindung des Präciptins zustande, was natürlich unsere obige Schlufsfolgerung nicht wesentlich tangiert.

Tabelle XIX.

Kaninchen XXXII erhält innerhalb 14 Tagen 60 ccm Milch intraperitoneal.

A	B	C
	25 ccm Kaseinlösung (Ca-frei) mit Lab auf 40° erwärmt, mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag in 16 ccm verd. Lauge zu neutraler Reaktion gelöst.	
2 ccm Ser. und 6 ccm Kaseinlös. Nach 1/4 Std. Stehen bei Zimmertemperatur mit 16 Tropfen sehr verd. Essigsäure gefällt, centrifug., die klare Flüssigkeit neutralisiert.	2 ccm Ser. und 6 ccm Parakaseinlösung. Wie A.	2 ccm Ser. und 6 ccm H_2O. Nach 1/4 std. Stehen mit 16 Tropfen verd. Essigsäure versetzt. Es entsteht keine Trübung. Neutralisiert.
Hinzugesetzt: 0,5 ccm $CaCl_2$ und 0,5 ccm Milch.	Hinzugesetzt: 0,5 ccm $CaCl_2$ und 0,5 ccm Milch.	Hinzugesetzt: 0,5 ccm $CaCl_2$ und 0,5 ccm Milch.
Resultat: Keine Fällung.	Resultat: Fällung d. Kaseins.	Resultat: Fällung d. Kaseins.

VI. Weitere Eigenschaften des Laktoserums.

Wie bereits erwähnt, wird die wirksame Substanz des Laktoserums durch etwa 1/2 stündige Einwirkung von Temperaturen über 70° C. inaktiviert. Mehrfach angestellte Versuche, dieselbe durch Zusatz selbst sehr grofser Mengen frischen Serums von unbehandelten, normalen Tieren zu reaktivieren, schlugen vollständig fehl. Auch in dieser Beziehung verhält sich somit das Laktoserum analog den agglutinierenden Serumarten. Nun hat Bail[33]) vor kurzem angegeben, dafs es ihm gelungen sei, die bei 75° inaktivierten Typhus-Agglutinine durch Zusatz von Peritonealexsudat eines Tieres wieder wirksam zu machen, das vor etwa 2 Stunden eine intraperitoneale Injektion von Bacterium typhi erhalten hatte, und nimmt auf Grund dieses Befundes an,

dafs auch die Agglutinine wie die Hämolysine und Bakteriolysine aus zwei differenten Bestandteilen zusammengesetzt sind, einem spezifischen, nur in dem Immunserum enthaltenen, und einem nicht spezifischen, der aber im normalen Serum in zu geringer Quantität vorhanden sei, um in Erscheinung zu treten, weshalb eben ein besonderer Kunstgriff notwendig werde, der seine Existenz erkennen lasse. Ich habe nun in ganz ähnlicher Weise auch mit Laktoserum einige Versuche angestellt; da dieselben jedoch sämtlich ein negatives Resultat ergaben, so sehe ich von einer genaueren Mitteilung der Versuchsprotokolle ab. Bis auf Weiteres wird man also das Präcipitin des Laktoserums als einfache, nicht aus zwei Komponenten bestehende Substanz ansehen müssen; in Ehrlichs Terminologie gesprochen als »Uniceptor« oder als freigewordenen »Receptor II. Ordnung«.

Bei Gelegenheit dieser Reaktivierungsversuche nun machte ich die Beobachtung, dafs dem inaktivierten Immunserum die Fähigkeit innewohnt, bei Einhaltung geeigneter quantitativer Verhältnisse die Wirkung des aktiven Serums aufzuheben.*)

Ich verfuhr bei diesen Versuchen folgendermafsen:

2 ccm Laktoserum wurden mit 4 ccm destillierten Wassers verdünnt**), um das Eintreten der Hitzekoagulation zu verhindern und hierauf etwa $^{1}/_{4}$ Stunde bei 75° C. gehalten. Nach dem Erkalten wurde hierzu 1 ccm frisches Laktoserum und 0,5 ccm Milch gegeben und gleichzeitig eine Kontrollprobe aufgestellt, die anstatt des inaktiven Serums 6 ccm destilliertes Wasser enthielt. Es zeigte sich, dafs in der Kontrolle schon nach wenigen Sekunden die typische Laktoserumfällung sich einstellte, während

*) Einen ganz analogen Befund hat soeben Pick (Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. I, Heft 7—12, S. 81) bei Typhus- und Cholerapferdeserum beschrieben, welche Sera durch halbstündiges Erhitzen auf 58—60° koagulinhemmende Eigenschaften erwerben, während sie ihre eigene koagulierende Kraft einbüfsen.

**) Zu bemerken ist, dafs das Serum bei dem Erhitzen nicht milchweifs und undurchsichtig werden darf; sollte dies, wie bei manchen Laktoseren, der Fall sein, so mufs es vor dem Erwärmen stärker verdünnt werden, als oben angegeben wurde.

in der Probe, welche das inaktivierte Serum enthielt, selbst nach mehreren Stunden keine Abscheidung eines Niederschlages zu beobachten war; dementsprechend trat auch bei andauerndem Centrifugieren in dieser Flüssigkeit keine Spur eines Bodensatzes auf. (Tabelle XX und XXI.)

Tabelle XX.

Kaninchen XXXV erhält innerhalb 14 Tagen 70 ccm Milch intraperitoneal. Blutentnahme 5 Tage nach der letzten Injektion. 1 ccm Serum fällt 0,5 ccm Milch.

Milch	Aktiv. Laktos.		
0,5 ccm	1,0 ccm	2 ccm Laktos. und 4 ccm H_2O 1/4 Std. auf 75° erwärmt	0 beim Centrifug. kein Bodensatz
0,5 ccm	1,0 ccm	6 ccm dest. Wasser	sofortige Fällung

Tabelle XXI.

Kaninchen XXXVI erhält innerhalb 14 Tagen 60 ccm Milch. Blutentnahme 3 Tage nach der letzten Injektion. 1 ccm Serum fällt 0,5 ccm Milch.

Milch	Aktiv. Laktos.		
0,5 ccm	1,0 ccm	2 ccm Serum und 4 ccm H_2O 1/2 Std. auf 75° erhitzt	0 nach 4 Std. centrifugiert. Kein Bodensatz
0,5 ccm	1,0 ccm	6 ccm dest. Wasser	sofortige Fällung

Tabelle XXII.

Normales, nicht vorbehandeltes Kaninchen A u. B. Laktoserum XXXVI.

Milch	Aktiv. Laktos.		
0,5 ccm	1,0 ccm	2 ccm Ser. A und 4 ccm H_2O 1/4 Std. auf 75° erw.	sofortige Fällung
0,5 ccm	1,0 ccm	2 ccm Ser. B und 4 ccm H_2O 1/4 Std. auf 75° erw.	sofortige Fällung

Durch die Einwirkung der höheren Temperaturen hat somit das Laktoserum entweder die ganz neue Eigenschaft erworben, frischer aktives Serum in seiner präcipitierenden Wirkung zu hemmen, oder es handelt sich hierbei um eine Eigenschaft, welche dem Laktoserum bereits von Anfang an zukam, welche jedoch erst nach Zerstörung des Präcipitins deutlich zu Tage treten konnte, indem sie in dem frischen Serum durch die überwiegende koagulierende Kraft desselben verdeckt wurde.

Dafs die zweite der beiden eben erwähnten Möglichkeiten hier nicht vorliegen kann, ist übrigens leicht zu zeigen. Wäre nämlich die hemmende Wirkung schon dem frischen Serum fakultativ zuzusprechen, und wäre dieselbe nur durch die gleichzeitig vorhandenen fällenden Substanzen verdeckt, dann müfste es gelingen, dieselbe dadurch in Erscheinung treten zu lassen, dafs man das Laktoserum zuerst durch Zusatz genügender Milchmengen des Präcipitins beraubt, dann aber eine geringe Quantität frischen Laktoserums hinzufügt und beobachtet, ob nunmehr eine Hemmung eintritt. Wie ich mich überzeugen konnte, ist das jedoch nicht der Fall; die hemmenden Substanzen können somit nicht schon in dem aktiven Laktoserum vorgebildet sein, und wir müssen uns also für die erstere der beiden möglichen Annahmen entscheiden, dafs dieselben nämlich erst durch die Wärmeeinwirkung auf das Laktoserum entstehen. Welcher Art der dabei ins Spiel kommende chemische Vorgang sein dürfte, darüber fehlt uns jeder Anhaltspunkt.

Die nächste Frage, die sich natürlicherweise sofort an die Konstatierung dieser Thatsache anschlofs, war die, ob auch normales Kaninchenserum im aktiven oder inaktivem Zustande einen derartigen hemmenden Einflufs auf die Laktoserumwirkung erkennen lasse. Wie aus Tabelle XXIII hervorgeht, ist diese Frage mit Nein zu beantworten.*)

*) Bemerkt sei, dafs diese Hemmungsversuche mit Normalserum 9 mal, mit Laktoserum 11 mal und zwar stets mit dem gleichen Erfolge wiederholt wurden.

Die Abscheidung des Kaseins trat ohne jede Verzögerung, auch bei Anwesenheit des inaktivierten Normalserums ein, womit zugleich ein Einwand widerlegt ist, der möglicherweise erhoben werden konnte: dafs nämlich die beobachtete Hemmung der Kaseinfällung einfach durch die physikalische Beschaffenheit der erhitzten und daher etwas dickflüssigeren Eiweifslösungen bedingt sei.

Dafs dies nicht der Fall sein kann, geht übrigens auch schon daraus hervor, dafs man das inaktivierte Immunserum auf das Doppelte des ursprünglichen Volumens (also in unserem Falle auf 12 ccm) verdünnen kaun, ohne dafs die hemmende Wirkung verloren geht.

Wie ist nun das Phänomen zu erklären, müssen wir weiter fragen? Denn an und für sich ist dasselbe ja alles eher als eindeutig.

Um die verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten zu übersehen, die sich uns darbieten, müssen wir uns daran erinnern, dafs an dem Zustandekommen der Laktoserumfällung drei verschiedene Komponenten beteiligt sind, deren jede den Angriffspunkt für hemmende Kräfte abgeben könnte: nämlich 1. das Präcipitin, 2. das Kasein und 3. die Kalksalze. Damit ist der Plan, den wir bei der Ergründung dieses Phänomens einzuhalten haben, fixiert: wir haben zu untersuchen, auf welche dieser drei genannten Komponenten unser inaktiviertes Serum einwirkt.

1. Beginnen wir zunächst mit den **Kalksalzen.** In ihrer bereits mehrfach citierten Arbeit haben Fuld und Spiro die labhemmende Eigenschaft des Pferdeserums, welche bereits Hammarsten bekannt war und dann von Rödén zum Gegenstand ausführlicher Untersuchung gemacht worden war, neuerdings mit Hilfe der vervollkommneten modernen Untersuchungsmethoden eingehend studiert und fanden, dafs dieselbe an die Pseudoglobulinfraktion gebunden sei; ferner konnten sie wahrscheinlich machen, dafs das Pseudoglobulin gerade seiner Fähigkeit, Kalk gelöst zu halten, seine hemmende Einwirkung auf die Labgerinnung verdanke; eine Folgerung, zu

der die Verfasser sich u. a. auch durch die Beobachtung genötigt sahen, dafs Zusatz geringer Mengen von Chlorkalcium sofort im stande war, die Wirksamkeit des »Antilabs« aufzuheben.

Nach Analogie mit diesen Thatsachen wäre es somit ganz gut denkbar, dafs es sich auch in unserem Falle um eine derartige Kalkentziehung durch das inaktive Immunserum handeln könnte.

Unsere Versuche bestätigen jedoch diese Vermutung nicht: denn man kann selbst relativ beträchtliche Mengen von Kalksalzen zu dem Gemische von aktivem und inaktivem Laktoserum hinzusetzen, ohne dafs sich die Versuchsergebnisse wesentlich ändern: die hemmende Wirkung des letzteren bleibt auch bei Anwesenheit von viel Kalk noch bestehen.

Tabelle XXIII.

Laktoserum XXXV und XXXVI.

Milch	Laktoser.	$CaCl_2$		
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXV	1 ccm	2 ccm Ser. XXXV und 4 ccm H_2O $^1/_4$ Std. auf 75° erwärmt	0 nach 4 Std. centrif. Kein Bodensatz
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXV	1 ccm	2 ccm Ser. XXXVI und 4 ccm H_2O $^1/_4$ Std. auf 75° erwärmt	0 nach 4 Std. centrif. Kein Bodensatz
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXV	1 ccm	6 ccm H_2O	Sofort. Fällung

2. Können wir somit den Kalksalzen keine wesentliche Rolle bei dem Zustandekommen der Hemmungswirkung zuschreiben, so richtet sich unsere Aufmerksamkeit nunmehr auf den zweiten wichtigen Faktor der Kaseinfällung, auf das **Präcipitin.** Es wäre denkbar, dafs dieses letztere durch das inaktivierte Serum in irgend einer Weise gebunden oder neutralisiert würde, und so verhindert würde, sich mit dem Kasein zu vereinigen. Auch hier drängen sich uns Analogien aus anderen Gebieten der Immunitätslehre auf. Es ist bekannt, dafs manche normale

Pferdesera Diphtherie- und Tetanusantitoxin enthalten, richtiger gesagt, Substanzen, welche diese Gifte zu binden vermögen. Ferner hat man in einer ganzen Reihe von Serumarten Antihämolysine gefunden [Ehrlich[34]) gegen Tetanolysin; Kraus und Claimont[35]) gegenüber anderen bakteriellen Hämolysinen; Verfasser[36]) und fast gleichzeitig Besredka[37]) gegenüber normalen hämolytisch wirkenden Seren]. Noch gröfsere Ähnlichkeit bietet jedoch eine Beobachtung, die Verfasser[38]) vor kurzem anläfslich hämolytischer Studien machen konnte, dafs nämlich normales Meerschweinchenserum erst durch Erwärmen auf 55—60° antihämolytische Eigenschaften gegenüber normalem oder spezifisch-hämolytischem Kaninchenserum erwirbt, und dafs den Angriffspunkt dieser Hemmungswirkung aller Wahrscheinlichkeit nach der Zwischenkörper abgibt, also jener Bestandteil des Hämolysins, der der Haptophoren-Gruppe unseres Präcipitins entsprechen würde. Es wäre also immerhin berechtigt, die oben erwähnte Möglichkeit ernstlich in Betracht zu ziehen. *)

Bevor ich jedoch an die Mitteilung meiner diesbezüglichen Versuche gehe, mufs ich noch folgendes vorausschicken. Es ist leicht nachzuweisen, dafs das Serum — sowohl normales wie Laktoserum — durch den Vorgang der Erwärmung auf 75—80° eine schon mit den einfachsten chemischen Mitteln erkennbare bedeutende Veränderung erfahren hat. Setzt man nämlich zu demselben einige Tropfen verdünnter Essigsäure hinzu, so entsteht eine sehr voluminöse Fällung, welche bei weitem intensiver ausfällt als die entsprechende, im frischen Serum mit Essigsäure zu erhaltende Globulinfällung. Allem Anschein nach handelt es sich hier um ein analoges Phänomen, wie es Starke[39]) vor einiger Zeit genauer studiert hat: nämlich um eine Entstehung globulinartiger Substanzen — Starke spricht dieselben sogar als echte Globuline an — aus dialysierten oder wenigstens stark

*) Diese Berechtigung ist umso gröfser, als Pick in seiner bereits citierten Arbeit den Nachweis führen konnte, dafs an der hemmenden Wirkung des erhitzten Immunserums die Bakterienkoaguline keinen Anteil nehmen, und die Reaktion ausschliefslich zwischen den beiden Seren, dem aktiven und dem inaktiven, sich abspielt.

verdünnten Albuminlösungen beim Erhitzen auf höhere Temperaturen. Ich legte mir nun zunächst die Frage vor, an welchen Teil des inaktivierten Laktoserums die hemmende Wirkung gebunden sei: an die mit Essigsäure fällbaren Substanzen, oder an den in Essigsäure löslichen Rest. Ich säuerte daher das inaktivierte Serum bis zum flockigen Ausfall des Niederschlages ab, trennte den letzteren durch Zentrifugieren von der klaren oder nur sehr leicht getrübten Flüssigkeit und neutralisierte sodann beide Fraktionen durch Zusatz verdünnter Natronlauge, wobei der Niederschlag (unter Zusatz von etwas destilliertem Wasser) wieder in Lösung ging. Nachdem ich mich dann durch Zentrifugieren des gelösten Niederschlages überzeugt hatte, dafs keine ungelösten Partikelchen in der etwas trüben Flüssigkeit zurückgeblieben waren, welche sich als Bodensatz abscheiden und so unsere weiteren Versuche stören konnten, wurde zu beiden Portionen 0,5 ccm Milch, 1,0 ccm Chlorkalciumlösung und 1 ccm frisches, aktives Laktoserum hinzugesetzt. Wie aus Tab. XXIV zu entnehmen ist, kommt nur den mit Essigsäure gefällten Substanzen eine hemmende Wirkung auf die Laktoserumfällung zu; der in Essigsäure lösliche Anteil des Serums ist ohne Einflufs auf dieselbe. — Ist nun diese Hemmung dadurch bedingt, dafs das Präcipitin des aktiven Serums mit den in Essigsäure unlöslichen Substanzen des inaktiven eine Verbindung eingeht, welche seine Einwirkung auf das Kasein unmöglich macht, dann liegt es nahe, das Eintreten dieser Verbindung in ähnlicher Weise festzustellen, wie dies in dem vorhergegangenen Abschnitte mit der Verankerung des Präcipitins an das kalkfreie Kasein geschehen ist. Demgemäfs wurde das — wie oben — inaktivierte, verdünnte Serum (2 ccm + 4 ccm destilliertes Wasser) mit 1 ccm frischen Laktoserums versetzt, $^1/_4$ Stunde stehen gelassen und dann mit verdünnter Essigsäure ausgefällt. Durch Zentrifugieren wurden Niederschlag und Flüssigkeit getrennt, die Flüssigkeit abgegossen, neutralisiert, und durch Zusatz von Milch und etwas Kalciumchlorid auf die Anwesenheit von Präcipitin geprüft. Tab. XXV zeigt, dafs das letztere nicht mit den hem-

Tabelle XXIV.

Milch	Laktoser.	$CaCl_2$		
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXV	1 ccm	Die in Essigsäure lösliche Fraktion von 2 ccm inaktiv. Ser. XXXV	Sofort. Fällung
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXV	1 ccm	Die in Essigs. unlösl. Fraktion von 2 ccm inakt. Ser. XXXV	0 auch nach Centrif. kein Bodensatz
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXVI	1 ccm	Die in Essigs. lösliche Fraktion von 2 ccm inakt. Ser. XXXVI	Sofort. Fällung
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXVI	1 ccm	Die in Essigs. unlösl. Fraktion von 2 ccm inakt. Ser. XXXVI	0 auch nach Centrif. kein Bodensatz
0,5 ccm	1 ccm Ser. XXXVI	1 ccm	6 ccm H_2O	Sofort. Fällung

Tabelle XXV.

2 ccm Laktoserum und 4 H_2O, inaktiviert, hemmen 1 ccm frisches Serum (gegen 0,5 ccm Milch).

A	B
2 ccm Laktoser. XXXVI + 4 H_2O 20 Min. auf 75° erwärmt. Dazu 1 ccm Serum XXXVI, frisch. 1/4 Std. stehen gelassen, dann tropfenweise Essigsäure zugesetzt; abcentrifugiert. Die Flüssigkeit neutralisiert, + 0,3 $CaCl_2$ + 0,3 ccm Milch.	2 ccm Laktoser. XXXVII + 4 H_2O 20 Min. auf 75° erwärmt. Dazu 1 ccm Serum XXXVI, frisch. 1/4 Std. stehen gelassen; Essigsäure zugesetzt; abcentrifugiert. Centrifugat neutralisiert; + 0,3 $CaCl_2$ + 0,3 Milch.
Resultat: Sofortige Fällung.	Resultat: Sofortige Fällung.

menden Substanzen in den Niederschlag eingegangen ist, dafs also, wenn man nicht die Annahme machen will, dafs die eingetretene Verbindung durch die kurze Einwirkung der verdünnten Essigsäure wieder

gesprengt worden sei, wohl auch keine Verbindung zwischen Präcipitin und den hemmenden Substanzen zustande kommt.

Tabelle XXVI.

A	B
2 ccm Laktoser. XXXVI + 4 H_2O 20 Min. auf 75—80°; dazu 1 ccm Serum XXXVI frisch + 0,3 $CaCl_2$ + 0,5 ccm Milch. Nach 1/4 Std. mit Essigsäure gefällt, abcentrifugiert. Die Flüssigkeit neutralisiert. + 0,3 ccm Milch + 0,3 $CaCl_2$.	2 ccm Laktoser. XXXVII + 4 H_2O 20 Min. auf 75—80°; dazu 1 ccm Serum XXXVII frisch + 0,3 $CaCl_2$ + 0,5 ccm Milch. Nach 1/4 Std. mit Essigsäure gefällt, centrifugiert. Die Flüssigkeit neutralisiert. + 0,3 ccm Milch + 0,3 $CaCl_2$.
Resultat: Keine Fällung.	Resultat: Keine Fällung.

3. Die dritte, bereits angedeutete Möglichkeit wäre nunmehr die, dafs die hemmenden Substanzen mit dem Kasein selbst in Verbindung träten und auf diese Weise dasselbe vor der Einwirkung des Präcipitins schützen würden. Auch für derartige Hemmungen gäbe es Parallelen in anderen Gebieten der Immunitätslehre. Ich hebe nur ein jüngst bekannt gewordenes Beispiel hervor, da dasselbe sich unmittelbar an unseren Fall anschliefst: nämlich die Entstehung von hemmenden Substanzen aus den Agglutininen, die Eisenberg und Volk[40]) beobachtet haben; Substanzen, welche noch mit den Bakterienleibern Verbindungen eingehen, denen aber infolge der Zerstörung der zymophoren Gruppen, wie die Verfasser annehmen, die Fähigkeit abgeht, die Bakterien zu Klümpchen zusammenzuballen. Die Anwesenheit gröfserer Mengen dieser »Agglutinoide« vermag in der That die Wirkung der Agglutinine zu paralysieren, resp. von den Bakterien abzulenken.

Liegt nun etwas Ähnliches auch bei dem Laktoserum vor; ist das Kasein durch die hemmenden Substanzen mit Beschlag belegt, und der Einwirkung des gleichzeitig vorhandenen Präcipitins dadurch entzogen, so mufs das letztere noch im freien Zu-

stande in der Flüssigkeit existieren und nachzuweisen sein. Entfernt man demnach das Kasein durch Essigsäure, so müſste, da, wie wir bereits wissen, das freie Präcipitin durch diese Prozedur nicht mit ausgefällt wird, die von dem Niederschlage abzentrifugierte Flüssigkeit nach dem Neutralisieren wieder im stande sein, neuerlich zugesetzte Milch zu koagulieren. Daſs jedoch auch diese Schluſsfolgerung nicht zutreffend ist, zeigt Tab. XXVI. Das Zentrifugat hat, wie aus derselben zu entnehmen ist, seine präcipitierende Fähigkeit (auch nach Kalkzusatz) vollkommen verloren, das Präcipitin ist in den mit Essigsäure entstehenden Niederschlag eingegangen, ist also wohl mit dem Kasein in Verbindung getreten, da eine Verbindung desselben mit den hemmenden Substanzen (wenigstens bei Gegenwart von Essigsäure) nach den obigen Versuchen ausgeschlossen ercheint. Hiernach würden wir uns also genötigt sehen, auch die Zulässigkeit des eben in Diskussion stehenden Erklärungsmodus für die Hemmung der Laktoserumfällung von der Hand zu weisen, wenn nicht gegen diese Versuche der bereits angedeutete Einwand erhoben werden könnte, daſs eine Verbindung der hemmenden Substanzen mit dem Präcipitin bezw. mit dem Kasein zwar in neutraler oder schwach alkalischer Lösung zustande komme, daſs dieselbe jedoch durch den Zusatz der Säure wieder gesprengt werde. — In diesem Falle wäre es natürlicherweise unmöglich, irgend welche Schlüsse aus Versuchen zu ziehen, bei welchen Essigsäure in Anwendung kam.

Ich habe daher, um über diese Fragen einigen weiteren Aufschluſs zu erlangen, noch die folgenden Experimente angestellt, bei welchen jeder derartige chemische Eingriff vermieden würde, der Veränderungen in den Beziehungen der bei der Kaseinfällung ins Spiel kommenden Komponenten zu einander hätte setzen können. Diese Versuche gingen von folgender Erwägung aus: Wäre, wie dies die zweite von uns in Betracht gezogene Erklärungsmöglichkeit erfordern würde, in der That das Präcipitin an die Hemmenden Substanzen gebunden, und somit auſser stande, sich mit dem Kasein zu verbinden, so müſste

die Anwesenheit freien Kaseins bei weiterem Zusatz von Präcipitin notwendig zu Tage treten. Setzt man demgemäfs zu unserer inaktiven Mischung einen Überschufs an frischem Laktoserum hinzu (etwa 2—3 ccm, statt, wie früher nur 1 ccm), so tritt nunmehr die früher gehemmte Niederschlagsbildung wieder auf: die Kaseinfällung läfst sich also durch Vermehrung des Präcipitins erzwingen. (Tab. XXVIII.)

Tabelle XXVII.

Laktoserum XXXVIII und XXXIX.

Laktos. frisch	Milch	Inakt. Serum	
1,0	0,5	2 ccm Laktos. XXXVIII + 4 ccm H_2O, 20 Min. auf 75° erw.	0 centrifugiert bleibt die Flüssigkeit homogen. Kein Bodensatz.
3,0	0,5	2 ccm Laktos. XXXVIII + 4 ccm H_2O, 20 Min. auf 75° erw.	Fällung. centrifugiert: starker weifser Bodensatz.
1,0	0,5	2 ccm Serum XXXIX + 4 ccm H_2O, 20 Min. auf 75° erw.	0 centrifugiert: kein Bodensatz.
3,0	0,5	2 ccm Serum XXXIX + 4 ccm H_2O, 20 Min. auf 75° erw.	Fällung. centrifugiert: starker weifser Bodensatz.

Es scheint diese Thatsache, wenigstens auf den ersten Blick sehr dafür zu sprechen, dafs in der That die Hemmung nur durch eine Beschlagnahme des Präcipitins, durch eine relative Verarmung unserer Flüssigkeit an Präcipitin bedingt sei, welche eben nur durch Zufuhr neuen aktiven Serums behoben werden kann.

So ungezwungen sich nun aber auch diese Folgerung aus den erwähnten Versuchen zu ergeben scheint, so ist dieselbe doch durchaus keine bindende. Stellt man sich nämlich die Vereinigung des Präcipitins oder Kaseins mit den hemmenden Substanzen nicht so schematisch vor, wie dies bis jetzt der Ein-

fachheit wegen angenommen war, sondern bedenkt man, dafs es sich hierbei um die Konkurrenz zweier Substanzen handelt, die beide zu einer dritten chemische Affinitäten besitzen, und die sich daher auf diese dritte Substanz nach dem Grade ihrer Affinitäten und nach den Mengenverhältnissen, in denen sie in der Flüssigkeit vorhanden sind, verteilen müssen, so erkennt man, dafs diese Versuche auch die folgende Deutung zulassen: Präcipitin und hemmende Substanzen besitzen beide die Fähigkeit, Kasein zu binden.

Bei einem gewissen Mengenverhältnisse dieser beiden zu einander wird die Präcipitinmenge, die mit dem Kasein in Verbindung treten kann, eine zu geringe sein, als dafs sie eine Fällung hervorrufen könnte. Durch weiteren Zusatz von Präcipitin müssen sich jedoch die quantitativen Verhältnisse der Verteilung beider in Frage kommenden Substanzen auf das Kasein derart zu Gunsten des Präcipitins verschieben, dafs nunmehr — wie dies unsere Versuche lehren — die Fällungsreaktion eintreten kann.

Wie man sieht, bringen also auch diese Versuche keine Entscheidung unserer Frage. Jedenfalls aber bilden sie einen weiteren, vielleicht nicht unerwünschten Beweis dafür, dafs für das Zustandekommen der Hemmungswirkung nicht einfach die physikalische Beschaffenheit des inaktivierten Laktoserums verantwortlich gemacht werden kann. Denn, wäre die Niederschlagsbildung nur gewissermafsen mechanisch behindert, so wäre es schwer zu verstehen, wie eine Vermehrung des Präcipitins im stande sein sollte, diesen Widerstand zu überwinden. Noch auf andere Weise läfst sich übrigens zeigen, dafs die Rolle des erhitzten Serums bei der Hemmung nicht einfach eine passive sein kann. Es vermag dasselbe nämlich nicht nur die Laktoserumfällung zu verhindern, sondern auch die bereits eingetretene Fällung wieder rückgängig zu machen, mit anderen Worten, den gebildeten Niederschlag, das Laktopräcipitat aufzulösen. Diese Auflösung erfolgt nicht momentan, sondern nimmt einige Zeit in Anspruch; meist mehrere Stunden. Centrifugiert man daher das gut durch-

geschüttelte Gemisch von Präcipitat und inaktivem Serum sofort, so scheidet sich der Niederschlag wieder vollständig am Boden des Reagensglases ab. Nach drei bis vier Stunden Stehens bei Zimmertemperatur jedoch läfst sich das Präcipitat nicht mehr durch die Centrifuge von der Flüssigkeit trennen; dieselbe bleibt vollkommen homogen. (Tab. XXVIII.)

Tabelle XXVIII.

A (Serum XXXIX.)	B (Serum XL.)
1 ccm Laktoser. + 0,5 Milch; Niederschlag abcentrifugiert. — Dazu 2 Laktoser. + 4 H_2O, inakt. (20 Min. bei 75°), ferner 0,5 ccm $CaCl_2$. Durchgeschüttelt, centrifugiert: Bodensatz: durchgeschüttelt, nach 4 Std.: homogen, kein Bodensatz.	1 ccm Laktoser. + 0,5 Milch; Niederschlag abcentrifugiert. Zum Niederschlag 2 ccm Laktoser. + 4 H_2O, 20 Min. bei 75° inaktiviert; ferner 0,5 $CaCl_2$, durchgeschüttelt, centrifugiert: Bodensatz: durchgeschüttelt, nach 4 Std.: homogen, kein Bodensatz.

Normales Kaninchenserum, in genau der gleichen Weise inaktiviert, besitzt die Fähigkeit, das Lactoserumpräcipitat zu lösen, nicht. (Tab. XXIX.)

Tabelle XXIX.

A	B
1 ccm Laktoser. + 0,5 Milch; Niederschlag abcentrifugiert. Dazu 2 ccm Norm.-Kan.-Ser. A + 4 H_2O (20 Min. bei 75°) und 0,5 $CaCl_2$. Durchgeschüttelt, centrifugiert: Bodensatz. Nach 4 Std. centrifugiert: Bodensatz unverändert	1 ccm Laktoser. + 0,5 Milch; Niederschlag abcentrifugiert. Dazu 2 ccm Norm.-Kan.-Ser. B + 4 H_2O (20 Min. bei 75°) + 0,5 $CaCl_2$. Durchgeschüttelt, centrifugiert: Bodensatz. Nach 4 Std. centrifugiert: Bodensatz unverändert.

Da man nun kaum wird annehmen wollen, dafs das inaktive Laktoserum, im Gegensatze zum Normalserum, als einfaches

Lösungsmittel im physikalisch-chemischen Sinne auf das Präcipitat einwirkt — wogegen ja auch der relativ lange Zeitraum zu sprechen scheint, der zur Auflösung erforderlich ist, — so wird man sich wohl der Auffassung zuneigen müssen, dafs bei diesem Vorgange sich ein chemischer Prozefs abspielt. Würde man annehmen, dafs bei demselben das Kasein aus seiner Verbindung mit dem Präcipitin freigemacht und an die hemmenden Substanzen gekettet würde — welche Verbindung als löslich zu denken wäre —, so wäre das Wieder-in-Lösung gehen des Kaseins leicht verständlich, und anderseits auch die Übereinstimmung mit der dritten Erklärung der Hemmungswirkung in befriedigender Weise hergestellt. Voraussetzung für die Hemmung wie für die Auflösung des Präcipitates wäre dann nur eine starke Affinität der hemmenden Substanzen zu dem Kasein, welche dessen Verbindung mit dem Präcipitin hindern, resp. das Präcipitin aus der bereits eingetretenen Verbindung verdrängen würde. Auch das Ergebnis jener Versuche, bei welchen die Essigsäure in Anwendung kam, würde dann vollkommen verständlich sein, und sich ohne weiteres in den Rahmen dieser Erklärung einfügen lassen. Denn wird, wie wir annehmen müssen, die Verbindung des Kaseins mit den hemmenden Substanzen durch die Säure gespalten, dann gelten folgende Erwägungen: 1. Sind in der Flüssigkeit nur aktives und inaktives Serum zugegen, welche sich nicht beeinflussen, so kann nur die hemmende Substanz durch die Essigsäure gefällt werden; das freie Präcipitin aber, das, wie wir bereits wissen, in Essigsäure löslich ist, wird in der Flüssigkeit zurückbleiben müssen; 2. ist aber gleichzeitig auch Kasein zugegen, so wird sich dieses, als durch die Säure in Freiheit gesetzt, des Präcipitins bemächtigen und dasselbe (wie bei den Versuchen mit Ca-freiem Kasein und Laktoserum) mit sich reifsen müssen. Gleichzeitig und unabhängig davon werden aber auch die hemmenden Substanzen ausgefällt.

Während nun ähnliche Betrachtungen auch für die Eventualität einer Bindung des Präcipitins durch die hemmenden Substanzen durchgeführt werden könnten, möchte ich im folgenden

noch einer Versuchsreihe Erwähnung thun, die mir auf indirektem Wege eine Bindung des Kaseins, wenn auch nicht zu beweisen, so doch sehr wahrscheinlich zu machen scheint.

Ich suchte nämlich zu ermitteln, welchen Ursprungs die hemmenden Substanzen des inaktivierten Laktoserums wohl sein dürften, resp. ob dieselben zu dem Präcipitin in Beziehung stehen oder nicht. Ich habe zu diesem Zwecke aktives Laktoserum (auf das dreifache Volumen verdünnt) mit so viel Milch versetzt, als dasselbe auszufällen vermochte, und dasselbe auf diese Weise seines Präcipitins beraubt. Nach Entfernung des Niederschlages mittels Centrifuge wurde die Flüssigkeit wie gewöhnlich inaktiviert und dann auf ihre hemmende Fähigkeit untersucht. Wie sich bei Versuchen mit vier verschiedenen Seren*) herausstellte, hatten dieselben durch die geschilderte Behandlung ihre Hemmungswirkung vollkommen eingebüfst. Nur ein fünftes Serum hatte dieselbe — aus unbekannten Ursachen — auch nach der Ausfällung des Präcipitins noch beibehalten. Da diese Versuche mit jedem Serum wiederholt und stets mit dem gleichen Resultate angestellt wurden, so halte ich eine Täuschung für ausgeschlossen, und möchte das Hauptgewicht auf die positiv ausgefallenen Experimente legen, aus denen hervorzugehen scheint, dafs in der That die hemmenden Substanzen zu den Präcipitinen in genetischer Beziehung stehen. Denn, mit der Entfernung der letzteren aus dem Serum waren offenbar auch jene Substanzen aus demselben verschwunden, welche bei der Erwärmung auf 75° in die hemmenden Agentien übergehen. (Siehe Tab. XXX auf S. 178.)

Ist es nach diesen Versuchen somit sehr wahrscheinlich geworden, dafs die letzteren als Derivate der Präcipitine anzusehen sind, so fällt damit entschieden ein Gewicht zu Gunsten der Auffassung in die Wagschale, nach

*) Anmerkung bei der Korrektur. Ich habe seither noch weitere Versuche in dieser Richtung angestellt und verfüge nunmehr über elf gelungene Bindungsversuche, deren Protokolle in einer zweiten Mitteilung ausführlich wiedergegeben werden sollen.

welcher die Hemmung der Laktoserumfällung durch eine Bindung des Kaseins zu stande kommt.

Die hemmenden Substanzen wären nach dieser Auffassung als »Präcipitoide« den »Agglutinoiden« von Eisenberg und Volk direkt an die Seite zu stellen und anzusprechen als Rezeptoren zweiter Ordnung, deren »Zymophore« Gruppen — das Wort gebraucht, ohne etwas über den wirklichen Fermentcharakter derselben präjudizieren zu wollen — durch die Hitze zerstört, deren »haptophore« Gruppen jedoch erhalten geblieben sind*).

Tabelle XXX.

A	B (Kontrolle)
2 ccm Laktoserum XL + 4 H_2O + 1,0 ccm Milch; centrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen. 20 Min. bei 75° inaktiviert; dazu 1 ccm Serum frisch + 0,3 Milch centrifugiert: Fällung.	2 ccm Laktoserum LX + 4 H_2O sofort inaktiviert (20 Min. bei 75₀); dazu 1 ccm Serum frisch + 0,3 Milch: centrifugiert: keine Fällung.
2 ccm Laktoserum XLI + 4 H_2O + 1,0 ccm Milch wie oben 20 Min. bei 75°. Dazu 1 ccm Serum frisch + 0,5 Milch: Fällung.	2 ccm Laktoserum XLI + 4 H_2O sofort inaktiviert. Dazu 1 ccm Serum frisch + 0,5 Milch: keine Fällung.

Auffällig würde bei dieser Deutung nur der eine Umstand erscheinen, dafs wir, wie bereits auseinandergesetzt, für die Verbindung der »Präcipitoide«, der hemmenden Substanzen, mit

*) Nach einer Mitteilung von Paltauf (Protok. der k. k. Gesellsch. d. Ärzte in Wien, 29. Nov. 1901) hat Kraus gefunden, dafs inaktiviertes Typhus- und Choleraserum, das seine präcipitierenden Eigenschaften gegenüber den betreffenden Kulturfiltraten eingebüfst hat, noch im stande ist, fällbare Substanz zu binden. Auch hier haben wir es also, wie in dem von uns studierten Falle des inaktivierten Laktoserums, mit Präcipitoiden zu thun, das heifst mit Körpern, die aus den Präcipitinen unter Verlust der fällenden Eigenschaften entstehen, aber ihre Affinität zu den fällbaren Substanzen bewahrt haben.

dem Kasein eine Spaltung durch die verdünnte Essigsäure anzunehmen genötigt sind, während wir anderseits bei unseren Bindungsversuchen des kalkfreien Kaseins an das Präcipitin die Wahrnehmung machten, dafs die verdünnte Essigsäure, deren Verbindung ausfällt und dieselbe also nicht zu spalten scheint. Doch möchte ich annehmen, dafs dieser Unterschied mehr quantitativer Natur sein dürfte als qualitativer, da ja, wie wir wissen, bei längerem Kontakte des Laktopräcipitates mit der Essigsäure doch eine Lösung der Verbindung zu stande kommt und das Präcipitin in Freiheit gesetzt wird.

In der vorläufigen Mitteilung, die dieser Arbeit vorangeschickt wurde*), habe ich angegeben, dafs Laktoserum im inaktivierten Zustande die Fähigkeit besitze, auch die Wirkung des Labfermentes zu hemmen, normales Kaninchenserum jedoch nicht. Weitere, in dieser Richtung angestellte Experimente ergaben jedoch, dafs auch normale Kaninchensera diese labhemmende Eigenschaft in inaktiviertem Zustande besitzen können, weshalb Schlüsse über den Angriffspunkt unserer hemmenden Substanzen, die sich gegen die Präcipitine wenden und nur im Laktoserum anzutreffen sind, aus diesem Verhalten nicht wohl gezogen werden können. Hervorheben möchte ich jedoch, dafs diese Labhemmung wohl zu scheiden ist von der bereits mehrfach erwähnten und von Fuld und Spiro näher studierten, welche auf Kalkbindung beruht, und demgemäfs durch Zusatz von löslichen Kalksalzen sofort behoben werden kann. In unserem Falle bleibt nämlich die Hemmung auch bei reichlicher Kalkzufuhr unverändert bestehen. Dafs dieselbe ferner nicht auf einer Beeinflussung des Labfermentes beruhen kann, ist leicht zu zeigen. Teilt man nämlich die unwirksamgebliebene Mischung von inactiviertem normalen oder Laktoserum, Milch und Lab in zwei gleiche Hälften, fügt zu der einen 1 bis 2 ccm Milch hinzu und erwärmt dann beide Proben auf 40°, so tritt in der mit einem Überschufs an Milch versehenen Portion sofort typische Labkoagulation auf, während die andere — wie zu erwarten — unverändert bleibt. (Tab. XXXI, S. 181.)

*) Münchner med. Wochenschr., 1902, Nr. 7.

Da somit, wie dieser oft und stets mit demselben Resultat wiederholte Versuch beweist, in unserer Mischung freies wirksames Labferment zugegen ist, so kann der beobachtete Hemmungsvorgang unmöglich auf eine Bindung oder Beeinflussung des letzteren zu beziehen sein; wenn vielmehr trotz der Anwesenheit des intakten Labfermentes das — in nicht allzugroſser Menge vorhandene — Kasein in Lösung bleibt, so kann das nur den Grund haben, daſs das Kasein eben nicht als solches (bezw. als Parakasein) in der Lösung existiert, sondern in irgend einer Weise an die hemmenden Substanzen gebunden ist und dadurch vor der Ausscheidung bewahrt bleibt. Setzt man aber zu dieser Mischung mehr Kasein hinzu, als durch die labhemmenden Substanzen gebunden werden kann, dann muſs natürlich der freie Überschuſs an Kasein der Labwirkung unterliegen und gefällt werden, wie das ja auch unsere Versuche ergeben. Dabei drängt sich allerdings sofort die weitere Frage auf: Ist es wirklich das Kasein, das durch das inaktive Serum in Lösung gehalten wird, oder verhält es sich in diesem Falle nicht vielmehr so, daſs zwar das Kasein in der gewöhnlichen Weise der Labwirkung unterliegt und in Parakasein übergeführt wird, daſs aber das Parakasein durch die hemmenden Substanzen an der Abscheidung verhindert wird? In diesem Falle wäre es natürlich nicht berechtigt, von einer »Labhemmung« im eigentlichen Sinne des Wortes zu sprechen, ebensowenig wie in jenen Fällen, wo es sich um Kalkbindung handelt.

Sehr bemerkenswert ist übrigens die Thatsache, daſs auch die Fällung, welche beim Erwärmen mancher Milch mit Chlorkalciumlösung auftritt, durch das inaktivierte Serum gehemmt wird, und es liegt daher sehr nahe, diese beiden Hemmungsphänomene miteinander in Beziehung zu bringen und auf eine Ursache zurückzuführen.

Ich gedenke, den Mechanismus dieser eigentümlichen und, wie ich glaube, bisher nicht bekannten labhemmenden Wirkung des bei 75° inaktivierten, verdünnten Serums, deren versuchs-

weise Erklärung eben gegeben wurde, noch weiter zu verfolgen,*) und füge nur noch hinzu, dafs ein weiterer Unterschied gegenüber der auf Kalkbindung beruhenden »antilabenden« Eigenschaft, z. B. des Pferdeserums, insofern besteht, als diese letztere schon in dem frischen Serum nachzuweisen ist, während sie in unserem Falle dem frischen Serum fehlt und erst durch den Vorgang der Erwärmung hervorgerufen wird.

Tabelle XXXI.

Laktoserum XL	Normalserum I	Normalserum II**)
2 ccm Ser. und 4 H_2O 20 Min. bei 75—80°; dazu 0,5 ccm Milch und 0,3 ccm Lab 40°	2 ccm Ser. und 4 H_2O 20 Min. bei 75°; dazu 0,5 ccm Milch und 0,3 ccm Lab 40°	2 ccm Ser. und 4 H_2O 20 Min. bei 75°; dazu 0,5 ccm Milch und 0,3 ccm Lab
0	0	0
Hälfte a) 40° . . 0	Hälfte a) 40° . . 0	Hälfte a) 40° . . 0
Hälfte b) + 1 ccm Milch bei 40°: Fällung	Hälfte b) + 1 ccm Milch bei 40°: Fällung	Hälfte b) + 1 ccm Milch bei 40°: Fällung

Kalkzusatz zu Portion a) erzeugt keine Fällung, weder in der Kälte noch beim Erwärmen auf 40°.

Tabelle XXXII.

Laktoserum XL	Normalserum I	Normalserum II*)
2 ccm Ser. und 4 H_2O und 0,5 ccm Milch und 1 ccm $CaCl_2$ und 0,3 ccm Lab: Sofortige Fällung	2 ccm Ser. und 4 H_2O und 0,5 ccm Milch und 1 ccm $CaCl_2$ und 0,3 ccm Lab: Sofortige Fällung	2 ccm Ser. und 4 H_2O und 0,5 ccm Milch und 1 ccm $CaCl_2$ und 0,3 ccm Lab: Sofortige Fällung

*) Anmerkung bei der Korrektur. In einer II. Mitteilung, welche sich bereits im Druck befindet und im Centralbl. f. Bakt. erscheinen wird, werde ich zeigen, dafs das inaktive Serum imstande ist, Parakasein auch bei Anwesenheit von Kalksalzen in Lösung zu halten, und dafs dasselbe nicht vermag, die Einwirkung des Labfermentes auf das Kasein zu hindern. Dies geht daraus hervor, dafs auch bei Gegenwart des Serums Molkeneiweifs aus dem Kasein abgespalten wird. Damit ist also der Mechanismus dieses Hemmungsvorganges klargelegt.

**) Kan. II war vor 2 Monaten mit 1 Inj. von Rinderblut behandelt worden.

VI. Schlufs.

Wenn wir nun wieder zu der Frage zurückkehren, welche den Ausgangspunkt unserer Untersuchungen bildete, ob nämlich Gründe dafür vorliegen, die Laktoserumfällung als eine Fermentwirkung anzusehen, so müssen wir nunmehr auf die Erörterung eines Punktes eingehen, den wir bis jetzt unberührt gelassen haben. Wie bereits aus den früheren Abschnitten klar geworden ist — ohne jedoch ausdrücklich betont worden zu sein — erfolgt die Verbindung des Laktoserums mit dem Kasein nach quantitativen Verhältnissen. Eine gegebene Menge des Serums vermag nur eine ganz bestimmte Kaseinmenge auszufällen und ist, wenn dies geschehen ist, erschöpft. Nimmt man als charakteristisch für die Fermente ihre Eigenschaft an, bei der betreffenden chemischen Reaktion, die sie einleiten, nicht verbraucht zu werden, so würde diese Thatsache, wie man sieht, entschieden gegen die Fermentnatur des Laktopräcipitins sprechen.

Nun ist aber folgendes zu bedenken: Es wäre nicht unmöglich und auch mit der ebenerwähnten Eigenschaft der Fermente durchaus nicht im Widerspruche, wenn ein Ferment zwar bei dem Vorgange der Umsetzung, Spaltung, Oxydation etc. nicht einfach gebunden würde, nachträglich aber, nach bereits erfolgter Wirkung, mit einem der entstandenen Spaltungsprodukte eine Verbinduug eingehen würde; konkreter und, mit Beziehung auf unseren vorliegenden Fall gesprochen, wäre es denkbar, dafs die Laktoserumfällung gewissermafsen in zwei Phasen verliefe: in einer ersten, bei welcher das Kasein irgendwie fermentativ verändert würde, und in einer zweiten, bei welcher das supponierte Ferment an das veränderte und nunmehr für die Fermentwirkung gleichgültige Kasein gebunden und mit demselben ausgeschieden würde. Da das Ferment als jedenfalls hochkomplex gebauter Körper sicher sehr mannigfache »haptophore Gruppen« gegenüber anderen chemischen Substanzen haben dürfte, so läge in einer solchen sekundär erfolgenden Bindung wohl nichts Besonderes, und man müfste sich sogar eher noch wundern, dafs dergleichen nicht öfter zu beobachten ist.

Während wir also unter dieser Voraussetzung nicht nötig hätten, unsere Vorstellungen über die Haupteigenschaften der Fermente wesentlich zu modifizieren, liegt die Sache etwas anders bei einer vor kurzem von Ehrlich[41]) in seinen »Schlufsbetrachtungen« ausgesprochenen Anschauung. Hiernach hätten wir in gewissen, bei der Immunisierung entstehenden Substanzen, speziell in den Agglutininen, im Übermafs produzierte und abgestofsene »Fangarme des Protoplasmas« zu sehen, welche neben einer haptophoren Gruppe, die die Fixierung des Nahrungsmoleküls übernimmt, noch eine zweite aktive Gruppe besitzen, vermittelst derer sie auf dasselbe im Sinne eines Fermentes, etwa gerinnungserzeugend, einwirken. Da derartige Fermente bis jetzt nicht bekannt sind, so dürfte eine solche Erweiterung des Fermentbegriffes nicht ganz unbedenklich sein; man müfste sich denn die Sache in der Weise zurechtlegen, dafs man annimmt — wofür ja in der That manches zu sprechen scheint —, dafs bei allen Fermenten im Momente ihrer Wirkung eine Bindung an das zu spaltende Molekül erfolgt, dafs diese Bindung aber in den meisten Fällen wieder rückgängig gemacht wird, wenn die Umsetzung vollzogen ist, so dafs das Ferment wieder für weitere Moleküle verfügbar wird; dafs aber bei bestimmten Fermenten die Bindung eine zu feste ist, um nachträglich wieder gelöst werden zu können. Wie dem auch sei, jedenfalls geht aus dem Gesagten hervor, dafs ein quantitativer Verbrauch eines Stoffes bei einer chemischen Reaktion nicht unbedingt mit dessen Fermentnatur unvereinbar sein mufs, und dafs man deshalb, wenn sonstige Gründe für die letztere sprechen, dieses Moment nicht allzuschwer in die Wagschale fallen lassen wird.

Nun haben wir aber im Laufe unserer Untersuchungen Thatsachen kennen gelernt, welche mir mit der Annahme, dafs es sich bei der Laktoserumfällung um eine Fermentwirkung handle, kaum zu vereinigen scheinen. Wir sahen, dafs nicht nur aus dem Kaseinmolekül kein Molkeneiweifs (oder ein ähnlicher albumosenartiger Körper) abgespalten wird, wir konnten sogar aus dem Reaktionsprodukte, aus dem Laktopräcipitat, das, soweit man urteilen kann, unveränderte Kasein wieder regene-

rieren. Dergleichen ist noch bei keinem Fermente bis jetzt einwandsfrei gelungen, jedenfalls nicht durch einen so einfachen Vorgang, wie ihn das Erhitzen darstellt, welches ja an sich viel eher geeignet erscheint, fermentähnliche Spaltungen zu bewirken, als aus den Spaltungs- oder Umsetzungsprodukten die Muttersubstanzen wieder herzustellen. Wir können demnach aus unseren Versuchen kaum einen anderen Schlufs ziehen, als dafs das Kasein als solches durch die Einwirkung des Laktoserums keine wesentlichen Veränderungen erleidet, abgesehen von der leicht trennbaren Verbindung, welche es, wie wir uns überzeugt haben, mit der präcipitierenden Substanz eingeht. Dann erscheint aber die Annahme einer fermentativen Natur dieses Fällungsprozesses nicht mehr haltbar, da, wie schon erwähnt, als ein integrierendes Merkmal derselben — vielleicht als das einzige, welchem überhaupt wesentliche Bedeutung znkommt —, die Bildung von Spaltungs- oder Oxydationsprodukten angesehen werden mufs, will man sich der Anschauung Oppenheimers anschliefsen, von Produkten, welche bei der Auslösung eines exothermalen chemischen Prozesses entstehen.

Als ausreichende Erklärung für die Fällung des Kaseins durch das Laktoserum wird man dann konsequenterweise die Entstehung einer chemischen Verbindung annehmen müssen, deren Eigenschaft eben ist, bei Anwesenheit von Kalksalzen in neutralen Flüssigkeiten unlöslich zu sein.

Würde man gegen diese unsere Argumentation, um die Fermentnatur des Laktopräcipitins mit aller Gewalt zu retten, den Einwand erheben, es könnte die fermentative Veränderung des Kaseins eine so geringfügige und oberflächliche sein, dafs deren Rückbildung schon durch das Erwärmen erfolge, so wäre allerdings ein derartiger Einwand kaum zu widerlegen. Abgesehen davon jedoch, dafs wir — wie schon erwähnt — bei keinem anderen Fermente ähnliche oberflächliche Veränderungen beobachten können, mufs jedoch bemerkt werden, dafs dann die Annahme eines Fermentes erst recht, und zwar aus denkökonomischen Gründen, zurückzu-

weisen wäre; denn da derartige geringfügige Veränderungen auch durch einfache chemische Umsetzungen etc. entstehen, so wäre es überflüssig, zu deren Erklärung eine Fermentwirkung heranzuziehen.

Nach alledem, glaube ich, wird man sich also mit einer gewissen Berechtigung gegen den fermentativen Charakter der Laktoserumfällung aussprechen dürfen.

Ich bin damit beschäftigt, die hier ausgeführten Gesichtspunkte auch auf das Studium der hämolytischen Vorgänge zu übertragen und der Frage nach deren Fermentnatur — welche ja natürlich durch diese sich nur mit dem Laktoserum beschäftigende Studie nicht tangiert wird — mit anderen Methoden, als dies bisher geschehen ist, näherzutreten.

Zum Schlusse fasse ich die thatsächlichen Ergebnisse dieser Arbeit nochmals kurz zusammen;

1. Die Wirksamkeit des Laktoserums ist an die Anwesenheit von Kalksalzen gebunden. Die letzteren können auch durch Baryumsalze vertreten werden. (Abschnitt II.)
2. Laktoserum fällt auch gekochte Milch, eventuell erst nach Kalkzusatz. (Abschnitt II.)
3. Bei der Kaseinfällung mit Laktoserum ist die Abspaltung eines albumosenartigen Körpers von den Eigenschaften des Molkeneiweifses nicht nachweisbar. (Abschnitt IV.)
4. Die durch Kochen mit physiologischer NaCl-Lösung hergestellte Lösung des Laktopräcipitates wird sowohl durch neues Laktoserum, wie durch Labferment wieder gefällt. (Abschnitt V.)
5. Bei der Labkoagulation des gelösten Präcipitates entsteht Molkeneiweifs oder ein analoger albumosenartiger Körper. (Abschnitt V.)

6. Die Fällungsgrenzen des gelösten Präcipitates mit Ammonsulfat sind dieselben wie die des frischen Kaseins. (Abschnitt V.)
7. Aus 4., 5. und 6. darf man schliefsen, dafs das Kasein aus dem Präcipitate durch Kochen regeneriert wurde. (Abschnitt V.)
8. Durch starke Essigsäure läfst sich aus der Fällung das Präcipitin in wirksamer Form extrahieren. (Abschnitt V.)
9. Die Verbindung des Kaseins mit dem Präcipitin geht auch ohne die Anwesenheit von Kalksalzen vor sich. (Abschnitt V.)
10. Parakasein (durch Labfällung erzeugt) besitzt nicht mehr die Fähigkeit, Präcipitin zu binden. (Abschnitt V.)
11. Durch längeres Erwärmen auf 70° bis 75° wird das Laktoserum inaktiviert. (Abschnitt II.)
12. Es gewinnt dabei die Fähigkeit, die fällende Wirkung frischen Laktoserums zu hemmen. (Abschnitt VI.)
13. Laktoserum, dessen Präcipitin durch Kaseinzusatz entfernt wurde, besitzt keine hemmenden Eigenschaften. (Abschnitt VI.)
14. Ebensowenig hemmt inaktiviertes, normales Kaninchenserum. (Abschnitt VI.)
15. Die Hemmungswirkung wird durch Kalkzusatz nicht aufgehoben, ist also nicht durch Kalkentziehung bedingt. (Abschnitt VI.)
16. Die hemmenden Substanzen können aus dem inaktivierten Serum durch verdünnte Essigsäure ausgefällt werden. (Abschnitt VI.)
17. Eine Bindung des Präcipitins an die hemmenden Substanzen scheint bei essigsaurer Reaktion nicht stattzufinden.

18. Hingegen scheint, trotz eingetretener Hemmung, das Präcipitin bei essigsaurer Reaktion an das Kasein gebunden zu werden. (Abschnitt VI.)
19. Das inaktivierte Serum besitzt die Fähigkeit, bereits gefälltes Laktoserum-Präcipitat nach längerem Kontakt zu lösen. (Abschnitt VI.)
20. Normales, inaktiviertes Kaninchenserum besitzt diese Fähigkeit nicht. (Abschnitt VI.)
21. Laktoserum, das durch Milchzusatz seines Präcipitins beraubt wurde, gewinnt durch die Erhitzung auf 75° keine hemmenden Eigenschaften. (Abschnitt VI.)
22. Normales Kaninchenserum besitzt — wenigstens in den von uns angewendeten Mengenverhältnissen — keine labhemmenden Eigenschaften. (Abschnitt VI.)
23. Durch Erhitzen auf 75° erlangt es jedoch in vielen Fällen die Fähigkeit, die Wirkung des Labfermentes aufzuheben. Kalkzusatz ist hierbei ohne Einflufs. (Abschnitt VI.)
24. Diese Hemmung kann nicht durch eine Bindung des Labfermentes verursacht sein, da nach Zusatz überschüssigen Kaseins die früher gehemmte Koagulation wieder eintritt. (Abschnitt VI.)

Litteratur.

1) (Cit. nach Emmerich u. Löw.) Schweizer. Wochenschr. f. Pharm. 1891.
2) Deutsch. med. Wochenschr., 1896, Nr. 8.
3) Zeitschr. f. Hyg., 1899, Bd. 31.
4) Münchner med. Wochenschr., 1899, Nr. 39 u. 1900, Nr. 9.
5) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 35.
6) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37.
7) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37.
8) Ann. de l'inst. Past., 1900.
9) Münchner med. Wochenschr., 1901, Nr. 48.
10) Zentralbl. f. Bakt.. 1900, Bd. 38.

11) Fortschr. d. Med., Bd. XIX.
12) Ann. de l'inst. Past., 1899.
13) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXXI., 1900.
14) Wiener, klin. Wochenschr., 1901.
15) Zeitschr. f. Biolog., 1891, Bd. 28.
16) Berliner klin. Wochenschr., 1897, Nr. 23.
17) Pflügers Arch., 1900, Bd. 79.
18) Chem. Zentralbl., 1900, citiert nach Oppenheimer, »die Fermente«.
19) Arch. de physiol. V., 1895, citiert nach Schmidts Jahrb.
20) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXXI.
21) Zeitschr. f. Hyg., 1901, Bd. 36.
22) Zeitschr. f. Hyg., 1901, Bd. 36.
23) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXIV.
24) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXV.
25) Ann. de l'inst. Past., 1895.
26) Zeitschr. f, Hyg., Bd. XXII.
27) Prager med. Wochenschr., 1901.
28) Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXX, 1901.
29) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37.
30) Wiener klin. Wochenschr., 1901.
31) Münchner med. Wochenschr., 1900.
32) A. a. O.
33) A. a. O.
34) Berliner klin. Wochenschr., 1898.
35) Wiener klin. Wochenschr., 1900.
36) Zentralbl. f. Bakt., Bd. 29., 1901, II. Mittlg.
37) Ann. de l'inst. Past., 1901.
38) Zentralbl. f. Bakt., Bd. 29, 1901, I. Mittlg.
39) Zeitschr. f. Biolog.
40) A. a. O.
41) Spec. Pathol. u. Therap. v. Nothnagel., Bd. VIII, »Die Anämie«.
42) Oppenheimer, »Die Fermente«.

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

VIERUNDVIERZIGSTER BAND. 3. HEFT.

MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1902.

Inhalt.

Seite

In dem nächsten Hefte folgen:

Untersuchungen über die baktericide Wirkung des Äthylalkohols. Von Dr. med. J. Weigl, München. (Aus dem hygienischen Institut der Universität München.)

Über die reduzierenden Wirkungen der Bakterien. Von Dr. Eduard Cathcart und Prof. Martin Hahn. (Aus dem hygienischen Institut der Universität München.)

Über den Einfluſs der Besonnung auf den Gaswechsel des Menschen. Von Privatdozent Dr. Heinrich Wolpert. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Spezifische Blutveränderungen nach Harninjektionen. I. Abhandlung. Von Prof. Dr. A. Schattenfroh, Assistent am Institute. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.)

*Einsendungen beliebe man an **Prof. Rubner, Berlin C., Klosterstr. 36,** zu richten.*

Über die Bedeutung der Cigarren und besonders der Stummel derselben im Hinblick auf die Verbreitung der Tuberkulose.

Experimental-Untersuchungen

von

Dr. **Luigi Peserico,**
Assistent.

(Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Padua. Unter Leitung des Prof. A. Serafini.)

Um eine gute Prophylaxis einer Infektionskrankheit durchführen zu können, mufs man alle Wege und Mittel ihrer Verbreitung kennen. Was nun die Tuberkulose anbetrifft, so sind die letzteren vielfältig und verschiedenartig, und besonderer Beachtung würdig diejenigen, welche, in direkter oder indirekter Weise, den Übergang des Keimes vom Munde des Kranken zu demjenigen des Gesunden zu erleichtern vermögen.

Eines dieser Mittel ist sicherlich der Stummel der von Schwindsüchtigen gerauchten Cigarren, eine Frage, mit der sich Kerez[1]) in seinen Untersuchungen über »Den Einflufs des Tabaks auf den Schwindsuchtsbacillus« beschäftigt hat. Diese Übertragungsweise bietet ohne Zweifel gröfsere Gefahren als die durch die Art der Fabrikation selbst und die zum Verkauf gelangenden ganzen Cigarren bedingte darstellt.

1) H. Kerez, Über den Einflufs des Tabaks auf den Tuberkelbacillus. Centralbl. f. Bakteriol., 1894, XV. Bd., S. 57.

In der That gelangt der Cigarrenstummel einerseits oft fast unmittelbar aus dem Munde des ersten in denjenigen des zweiten Rauchers, anderseits wird derselbe bei längerem Verweilen im Munde des ersten Rauchers ausgiebig und innig mit Speichel imprägniert und mit den Mikroorganismen also, die sich in demselben befinden.

Ich habe es deshalb für angezeigt befunden, besondere Untersuchungen über den Cigarrenstummel anzustellen.

Jedoch in Erwägung der schlechten Gewohnheit — die von den Verkäufern bekämpft werden sollte —, dafs mit dem Munde geprüft wird, ob die Cigarre mehr oder minder gut zieht, und anderseits auch der Art der Fabrikation der Cigarren selbst, welche die Verwendung des Speichels gestattet, um die oberen Blätter aufzurollen und zu fixieren, habe ich meine Untersuchungen auch auf die Cigarren, wie sie sich im Verkauf befinden, ausdehnen wollen, in besonderer Weise rücksichtlich der Tuberkulose, im allgemeinen aber hinsichtlich der Mikroorganismen, die sich darin einnisten können, bezüglich deren Zahl nur ein einfacher Hinweis in einer Arbeit Wernickes anzutreffen ist: »Über die Art des Verhaltens der Cholera-Vibrionen in Berührung mit den Tabaksblättern und den Cigarren.«[1])

In Erwägung dessen, dafs sich beim Akte des Rauchens die eventuell in der Cigarre und dem Tabak existierenden Mikroorganismen gleichzeitig mit der Schleimhaut des Rauchers in Verbindung bringen, habe ich experimentieren wollen, indem ich den Tieren dieselben Tabaksblätter inokulierte, um eben so weit als möglich die Beziehung gleich derjenigen der Praxis zu gestalten.

Zu diesem Behufe habe ich mich im voraus überzeugen müssen, dafs bei subkutaner Inokulation von Tabaksstückchen das Versuchstier keine schädlichen Wirkungen zu erleiden habe. Ich inokulierte daher zweien Meerschweinchen Stückchen

1) Wernicke, Bemerkungen über das Verhalten der Kommabacillen der Cholera asiatica in Berührung mit Tabaksblättern und Cigarren. Hygien. Rundschau, II. Jahrg. 1892, S. 907.

sterilisierten Tabaks und diese leben heute noch und haben niemals die geringsten Beschwerden gehabt.

Und aufserdem impfte ich zum Zwecke der Feststellung der Thatsache, ob die pathogenen Keime im allgemeinen, wenn sie zugleich mit dem Tabak inokuliert werden, ihre pathogene Aktion bewahren, subkutan zweien Meerschweinchen Tabakstückchen, die mit dem Blute eines an Milzbrand im Verfolg der Inokulation mit sehr virulenter Kultur verendeten Kaninchens imprägniert waren. Eines der Meerschweinchen starb nach 48 Stunden, das andere nach 56 Stunden und im Blute beider fand man den spezifischen Keim.

Schliefslich habe ich, um mich zu überzeugen, dafs das gleiche mit dem Bacillus der Tuberkulose statthabe, der das spezielle Objekt meiner Untersuchungen bilden sollte, mit Sputum imprägnierte Tabakstückchen inokuliert, deren Tabak bei mikroskopischer Prüfung die Anwesenheit reichlicher Mengen von Tuberkulose-Bacillen ergeben hatte, und zwar fünf Meerschweinchen, wobei ich die nachfolgenden Resultate erhielt:

I. Meerschweinchen stirbt nach 82 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
II. Meerschweinchen stirbt nach 150 Tagen. Lungentuberkulose.
III. Meerschweinchen getötet nach 85 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
IV. Meerschweinchen getötet nach 85 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
V. Meerschweinchen getötet nach 85 Tagen. Lokale Tuberkulose.

Ich schicke voraus, dafs ich mit der Bezeichnung lokaler Tuberkulose, die ich der Kürze halber auch in der Folge anwende, die in besonderer Weise am Ort der Inokulation zur Entwicklung gelangte Tuberkulose verstehe.

Ich habe mich in dieser Weise überzeugt, dafs Tabak, mit dem Bacillus der Tuberkulosis subkutan einem Meerschweinchen verimpft, den Tuberkelbacillen ihre Wirkung nicht nimmt.

Indem ich nun zu dem mir vorgesetzten Studium übergehe, liefs ich von Schwindsüchtigen, in deren Auswurf die

Gegenwart des Tuberkelbacillus festgestellt worden war, Cigarren mit Stroh, ohne Stroh und Cigaretten rauchen.

I. Von den respektiven Stummeln wurden einige sofort (am selben Tage noch) subkutan den Meerschweinchen inokuliert, wobei natürlich jener Teil derselben zur Verwendung gelangte, der zwischen den Lippen war.

Und zwar:

a) Tabakstückchen, aus Stummeln von Cigarren mit Stroh, die von Schwindsüchtigen geraucht waren, entnommen:

Inokulierte Merschweinchen. 4 Stück. Von diesen starb:
das I. nach 4 Tagen. Kokkämie.
» II. nach 11 Tagen. Unbekannte Ursache.
» III. nach 120 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
» IV. nach 135 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen.

b) Tabakstückchen, entnommen von Stummeln von Cigarren ohne Stroh, die von Schwindsüchtigen geraucht wurden:

Inokulierte Meerschweinchen. 3 Stück. Von diesen ward getötet:
das I. nach 124 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
» II. nach 124 Tagen. Gesund.
» III. nach 124 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.

c) Tabakstückchen, entnommen den Stummeln von Cigarretten, die von Schwindsüchtigen geraucht wurden:

Inokulierte Meerschweinchen. 5 Stück, von denen das
I. nach 8 Tagen starb. Ursache unbekannt.
II. nach 9 Tagen starb. Staphylococcus pyogenes aureus.
III. nach 10 Tagen, wobei man in der Wunde und in den umliegenden Geweben, sowie in der Milz den Streptococcus pyogenes antrifft.
IV. nach 35 Tagen starb. Unbekannte Ursache.
V. nach 135 Tagen starb. Epidemie der Meerschweinchen.

Wenn ich die vor Ablauf von 15 Tagen, vom Tage der Inokulation an gerechnet, gestorbenen Meerschweinchen nicht in Betracht ziehe, so sehen wir, dafs 50% der sofort mit Stückchen von seitens Schwindsüchtiger gerauchter Cigarren inokulierten Tiere an Tuberkulose erkrankten. Dieses übrigens vorauszusehende Faktum zeigt, dafs die von Schwindsüchtigen gerauchten Cigarren ein Mittel der Verbreitung der Tuberkulose zu sein vermögen.

II. Andere Stummel von seitens Schwindsüchtiger gerauchten Cigarren wurden im Trocknen gehalten (gewöhnliche Umgebung) und zwar 15—20 Tage hindurch und dann den Meerschweinchen inokuliert.

Und zwar:

a) Tabakstückchen, aus Stummeln von Cigarren mit Stroh entnommen:

Dreien Meerschweinchen eingeimpft, von denen
das I. nach 50 Tagen stirbt. Diffuse Tuberkulose.
» II. nach 150 Tagen getötet wird. Gesund.
» III. » 150 » » » »

b) Tabakstückchen, aus Stummeln von Cigarren ohne Stroh entnommen:

Vier Meerschweinchen inokuliert. Von diesen starb
das I. nach 70 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
» II. nach 74 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen Bacillus (b. cavicida).
» III. nach 74 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (b. cavicida).
» IV. wird nach 87 Tagen getötet. Diffuse Tuberkulose.

Ich habe die Cigaretten aufser acht gelassen, weil die Stummeln derselben gewöhnlich nicht aufbewahrt werden.

Aus den oben vorgeführten Resultaten ergibt sich, dafs die Aufbewahrung eines Stummels durch einige Zeit in gewöhnlicher trockener Umgebung demselben die Fähigkeit zur Übertragung der Tuberkulose nicht nimmt.

III. Andere Stummel von durch Schwindsüchtige gerauchten Cigarren, und zwar von solchen mit Stroh, wurden inokuliert, nachdem man sie 20 Tage hindurch in der Feuchtigkeit und Dunkelheit erhalten hatte.

Und zwar wurden mit derartigen Stummeln entnommene Tabakstückchen inokuliert:

Drei Meerschweinchen. Von denen
das I. nach 20 Tagen starb. Pneumonitis.

das II. nach 99 Tagen starb. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (b. cavicida).
» III. nach 155 Tagen starb. Unbekannte Ursache.

Wenn man auch die geringe Zahl der zu den Versuchen verwendeten Tiere in Anrechnung zieht, so mufs man immerhin schliefsen, dafs keines von ihnen eine tuberkuläre Form darbot und zwar weder eine lokale, am Punkte der Inokulation, noch eine viscerale; ein Faktum, welches in Erwägung gezogen zu werden verdient.

IV. Einige der Stummeln von Schwindsüchtigen gerauchten Cigarren wurden schliefslich inokuliert, nachdem sie 20 Tage hindurch in den gewöhnlichen Bedingungen der Strafsen erhalten worden waren, während welcher Zeit auch der Regen und der Schnee auf sie herabfielen.

Und zwar wurden 5 Meerschweinchen inokuliert. Von denselben starb

das I. nach 63 Tagen. Unbekannte Ursache.
» II. nach 66 Tagen. Intestinale Obstruktion.
» III. nach 64 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (b. cavicida).
» IV. wurde nach 110 Tagen getötet. Gesund.
» V. » » 100 » » »

Auch aus diesen Versuchen ergibt sich, dafs die Stummel von seitens Schwindsüchtiger gerauchten Cigarren, die im feuchten Zustande erhalten werden, nicht im stande zu sein scheinen, die Krankheit den mit ihnen geimpften Tieren zu übertragen.

Nachdem derart festgestellt ward, dafs die Stummel von durch Schwindsüchtige gerauchten Cigarren, zumal wenn sie frisch und trocken gehalten sind, einen Verbreitungsweg des Tuberkelbacillus bilden, der sich in ihnen lebend und virulent vorfindet, bin ich dazu übergegangen, die Cigarrenstummel, die man auf der Strafse und in den Cafés aufliest, zu prüfen.

Mit derartigen Stummeln entnommenem Tabak wurden 19 Meerschweinchen inokuliert und zwar:

a) Tabak, den auf der Strafse gesammelten Cigarren- und Cigarettenstummeln entnommen:

I. Meerschweinchen, Cigarrentabak, getötet nach 180 Tagen. Gesund.
II. Meerschweinchen, Cigarrentabak, getötet nach 180 Tagen. Gesund.
III. Meerschweinchen, Cigarettentabak, gestorben nach 40 Tagen. Unbekannter. Ursache.
IV. Meerschweinchen, Cigarettentabak, gestorben nach 65 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen. Bac. cavicida.
V. Meerschweinchen, Cigarettentabak, gestorben nach 66 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen. Bac. cavicida.
VI. Meerschweinchen, Cigarettentabak, gestorben nach 66 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen. Bac. cavicida.

b) Tabak, den in den Kafés gesammelten Cigarren- und Cigarrettenstummeln entnommen:

I. Meerschweinchen, Cigarrentabak, getötet nach 122 Tagen. Gesund.
II. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 7 Tagen. Unbekannte Ursache.
III. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 29 Tagen. Unbekannte Ursache.
IV. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 30 Tagen. Sporospermosis.
V. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 106 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen.
VI. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 110 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen.
VII. Meerschweinchen, Cigarrentabak, gestorben nach 112 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen.
VIII. Meerschweinchen, Cigarrentabak, getötet nach 120 Tagen. Gesund.
IX. Meerschweinchen, Cigarettentabak, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
X. Meerschweinchen, Cigarettentabak, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
XI. Meerschweinchen, Cigarettentabak, getötet nach 4 Tagen. Staphylococcus pyogenes aureus.
XII. Meerschweinchen, Cigarettentabak, getötet nach 7 Tagen. Staphylococcus pyogenes aureus.
XIII. Meerschweinchen, Cigarettentabak, getötet nach 122 Tagen. Epidemie der Meerschweinchen. Bac. cavicida.

Die Resultate der Nachforschungen über den Inhalt des Tuberkelbacillus in den auf den Strafsen und in den Cafés aufgelesenen Cigarrenstummeln sind

also negativ. Wenn man jedoch das Resultat der vorausgegangenen Untersuchungen und die nicht grofse Zahl dieser letzteren Experimente (19) in Erwägung zieht, mufs man immer hin nur den Schlufs ziehen, dafs der Tuberkelbacillus sich nicht häufig darin vorfindet, dafs man ihn aber darin antreffen kann.

Schliefslich habe ich, um dem mir gesteckten Ziele hinsichtlich der Cigarren der Verkaufsläden gerecht zu werden, 10 Meerschweinchen inokuliert und zwar 5 mit Tabak, der den der Läden entstammenden Cigarren mit Stroh entnommen war, und 5 mit Tabak, der den Cigarren ohne Stroh gleicher Provenienz entnommen war und erhielt ich die nachstehenden Resultate:

a) Tabak von Cigarren mit Stroh:

I. Meerschweinchen, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
II. Meerschweinchen, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
III. Meerschweinchen, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
IV. Meerschweinchen, gestorben nach 19 Tagen. Pneumonitis.
V. Meerschweinchen, gestorben nach 80 Tagen. Epidemie des Meer schweinchen-Bacillus (cavicida).

b) Tabak von Cigarren ohne Stroh:

I. Meerschweinchen, gestorben nach 79 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (b. cavicida.)
II. Meerschweinchen, gestorben nach 82 Tagen. Unbekannte Ursache.
III. Meerschweinchen, getötet nach 124 Tagen. Gesund.
IV. Meerschweinchen, gestorben nach 112 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (b. cavicida).
V. Meerschweinchen, gestorben nach 112 Tagen. Epidemie des Meerschweinchen-Bacillus (cavicida).

In den Cigarren der Verkaufsläden habe ich also den Bacillus der Tuberkulosis nicht angefunden.

Da sich als Resultat meiner Untersuchungen einerseits ergibt, dafs die von Schwindsüchtigen gerauchten, mehr als zwei Wochen hindurch im Trockenen gehaltenen Cigarren sich als infizierend erwiesen (was im Gegensatz zum Ergebnis der oben citierten Untersuchungen von Kerez steht, der, freilich mit geringerer Versuchszahl, zum Schlusse kam, dafs die künstlich mit tuberkulärem Sputum imprägnierten Cigarren sich für die

Meerschweinchen nur bis zu 10 Tagen infizierend erweisen) und anderseits, dafs die gleichen Cigarren, wenn in feuchten und dunklen Orten gehalten (Bedingungen, welche dem Leben des Keimes günstig sein sollten), solche Eigenschaft nicht erwiesen, und sie ebensowenig von den den Einflüssen der Strafse ausgesetzten erwiesen wurden, so habe ich mich überzeugen wollen, ob jeder in Feuchtigkeitsverhältnisse gebrachte Tabak Substanzen zur Lösung bringe, welche fähig wären, dem Tuberkelbacillus die Virulenz zu nehmen.

Zu diesem Behufe habe ich das tuberkulöse Sputum im Kontakt mit jenen Substanzen halten wollen, welche sich aufgelöst in einem Tabakaufgufs antreffen können. Ich habe deshalb in genanntem Aufgufs Sputum emulsioniert, in dem ich die Tuberkelbacillen zahlreich angetroffen hatte und dann habe ich mit demselben Impfungen zu verschiedener Zeit vorgenommen und zwar sofort nach vorgenommener Emulsion und 3, 5, 8, 10 Tage danach.

Obschon aus den Arbeiten von Kerez, der für seine Versuche den Tieren den Tabak nicht in Stückchen, sondern im Aufgufs inokuliert hat, resultiert, dafs dieser ohne Reaktion sei, so lange ihm nicht Stückchen von Tabaksblättern beigemischt seien, habe ich mich dennoch durch eigene Versuche überzeugen wollen. Und nicht in allem übereinstimmend mit den Resultaten von Kerez, habe ich gefunden, dafs der Tabakaufgufs, im voraus filtriert und sterilisiert, in zweien Meerschweinchen, denen er subkutan inokuliert wurde, deutliches Unwohlsein hervorbrachte, das in kurzer Zeit verschwand; dafs er, ins Peritoneum zweier anderer Meerschweinchen inokuliert, fast unmittelbar Symptome von Parese, speziell der hinteren Gliedmassen, hervorbrachte, die jedoch in beiden Tieren vollständig nach einigen Stunden verschwanden.

Indem ich nun zu den Experimenten mit dem Aufgufs, in dem das tuberkulöse Sputum emulsioniert wurde,

übergehe, verweise ich auf die erhaltenen nachstehenden Resultate:

1. Subkutane Inokulation von Meerschweinchen mit Tabakaufgufs, in dem sicheres tuberkuläres Sputum vor wenigen Stunden emulsioniert war. Zahl der Meerschweinchen 9:

I. gestorben nach 10 Tagen. Peritonitis.
II. gestorben nach 30 Tagen Diffuse Tuberkulose.
III. gestorben nach 33 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
IV. gestorben nach 70 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
V. getötet nach 72 Tagen. Lokale Tuberkulose (am Einführungspunkte).
VI. getötet nach 72 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
VII. getötet nach 72 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
VIII. getötet nach 72 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
IX. getötet nach 72 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.

2. Subkutane Inokulation von Meerschweinchen mit Tabakaufgufs, der seit drei Tagen emulsioniertes tuberkuläres Sputum enthielt. Zahl der Meerschweinchen 4:

I. getötet nach 92 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
II. gestorben nach 80 Tagen Lungentuberkulose.
III. gestorben nach 62 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
IV. getötet nach 92 Tagen. Gesund.

3. Subkutane Inokulation von Meerschweinchen mit Tabakaufgufs, der seit fünf Tagen emulsioniertes tuberkuläres Sputum enthielt: Zahl der Meerschweinchen 4:

I. getötet nach 89 Tagen. Gesund.
II. getötet nach 89 Tagen. Gesund.
III. getötet nach 89 Tagen. Allgemeine und lokale Tuberkulose.
IV. getötet nach 89 Tagen. Stark ausgeprägte lokale Tuberkulose.

4. Subkutane Inokulation von Meerschweinchen mit Tabakaufgufs, der seit acht Tagen emulsioniertes tuberkuläres Sputum enthielt. Zahl der Meerschweinchen 4:

I. getötet nach 87 Tagen. Gesund.
II. getötet nach 87 Tagen. Gesund.
III. gestorben nach 59 Tagen. Allgemeine Tuberkulose.
IV. getötet nach 87 Tagen. Gesund.

5. Subkutane Inokulation von Meerschweinchen mit Tabakaufgufs, der seit 10 Tagen emulsioniertes tuberkuläres Sputum enthielt. Zahl der Meerschweinchen 4.

I., II., III., IV. getötet nach 85 Tagen; wurden insgesamt völlig gesund befunden.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dafs die Virulenz des Keimens fortschreitend abnimmt bis zum völligen Erlöschen am 10. Tage. Dies entspricht auch den von Kerez erhaltenen Resultaten.

Hieraus kann man das Recht zur Annahme herleiten, dafs sich im Tabak Substanzen befinden, welche, in Wasser aufgelöst, durch sich selbst oder mittels ihrer Reaktion einen vernichtenden Einflufs auf den Tuberkelbacillus ausüben können.

Da nun die Tabaksblätter in bemerkenswerter Weise hygroskopisch sind, so erklärt sich, wie dieselben bei längerem Verweilen an feuchten Orten genügende Mengen Wassers zur Entfaltung einer derartigen Aktion aufnehmen können.

Da verschiedene der Versuchstiere an anderen Infektionskrankheiten starben, eingerechnet eines, das mit Tabak von im Laden gekauften Cigarren inokuliert, an Pneumonitis zu Grunde ging, habe ich meine diesbezüglichen Untersuchungen mit einer allgemeinen bakteriologischen Prüfung der in Läden gekauften Cigarren vervollständigen wollen.

Zu diesem Zwecke habe ich den Grund von sterilen Eprouvetten mit ca. 3 ccm sterilen Wassers angefüllt, habe jenen Teil der Cigarre, der in den Mund gelangen kann, ganz fein geschnitten hineinfallen lassen, und nachdem ich dann lange den Inhalt der Eprouvette geschüttelt, habe ich mit dem flüssigen Teile Gelatineplatten gemacht, welche geprüft wurden, nachdem sie im Thermostaten bei 20° durch fünf Tage gehalten waren. Die Cigarren wurden im Laden gekauft und kaum geöffneten Schachteln entnommen.

Und hier sind nun die erhaltenen Resultate:

Cigarren (Marke Sella).

Platte I. Schimmel (Pennicillum) 25 Kolonien. Kokken 5 Kolonien. Erdäpfelbacillus 2 Kolonien.

Platte II. Keinerlei Kolonie.

Platte III. Die Gelatine der Kapsel ist verschmolzen und in ihr sieht man gelbliche, von Kokken gebildete Kolonien schwimmen, während der verflüssigende der Kartoffelbacillus ist.

Platte IV. Alles gleichmäßig verschmolzen. Kartoffelbacillus.

Platte V. Schimmel 6 Kolonien (Pennicillum). Kokken 9 Kolonien. Ein Teil der Gelatine am Rande der Platte ist vom Kartoffelbacillus verschmolzen.

Platte VI. Schimmel 10 Kolonien. Kokken 3 Kolonien. Grundbildende Bacillen 3 Kolonien.

Platte VII. Vollständige gleichmäßige Verschmelzung von Kartoffelbacillus.

Platte VIII. Schimmel 2 Kolonien in der gleichmäßig verschmolzenen Gelatine schwimmend.

Platte IX. Schimmel 2 Kolonien, Verschmelzung des Restes. Eine Kolonie von Proteus vulgaris.

Platte X. Schimmel 1 Kolonie.

Cigaretten.

Platte I. Zahllose Kolonien von Schimmelpilzen in der vom Kartoffelbacillus verflüssigten Gelatine schwimmend.

Platte II. Vollständige Verflüssigung von Kartoffelbacillus.

Platte III. Schimmel 62 Kolonien (vorwiegend Pennicillum). Kokken zahllose Kolonien, einige Stellen verflüssigt.

Platte IV. Schimmel 17 Kolonien. Eine Kolonie von Proteus vulgaris. Kokken 2 Kolonien.

Platte V. Schimmel 46 Kolonien, auf verflüssigter Gelatine schwimmend.

Platte VI. Anhäufungen von Schimmel, auf verflüssigter Gelatine schwimmend.

Platte VII. Verflüssigende Kolonien 3, Kartoffelbacillen.

Platte VIII. Schimmel 3 Kolonien. Verflüssigende Kolonien 6, Kokken 4 (p. aureus et albus).

Platte IX. Schimmel 132 Kolonien, auf vom Kartoffelbacillus verflüssigter Gelatine schwimmend.

Platte X. Schimmel 1 Kolonie. Kokken 3 Kolonien. Proteus vulgaris 1 Kolonie.

Platte XI. Kartoffelbacillus 2 Kolonien.

Platte XII. Kartoffelbacillus 2 Kolonien.

Platte XIII. Schimmel 1 Kolonie. Kartoffelbacillus 4 Kolonien.

Platte XIV. Kartoffelbacillus 9 Kolonien. Kokken (p. aureus) 1 Kolonie.

Platte XV. Schimmel 32 Kolonien. Kokken (pyog. albus) 1 Kolonie.

Virginia-Cigarren.

Platte I. Schimmel 2 Kolonien. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.

Platte II. Schimmel 3 Kolonien. Kokken (p. aureus) 1 Kolonie. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.

Platte III. Völlige Verschmelzung der Gelatine. 1 Schimmelkolonie.

Platte IV. Kartoffelbacillus 2 Kolonien.

Platte V. Schimmel 4 Kolonien. Kokken (p. aureus) 1 Kolonie. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.

Platte VI. Schimmel 3 Kolonien.

Platte VII. Schimmel 1 Kolonie.
Platte VIII. Schimmel 6 Kolonien. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.
Platte IX. Schimmel 2 Kolonien.
Platte X. Kokken 3 Kolonien. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.

Cigarre (Marke Toskana).

Platte I. Schimmel 11 Kolonien. Kartoffelbacillus 3 Kolonien.
Platte II. Schimmel 4 Kolonien. Kokken (p. aureus) 1 Kolonie. Kartoffelbacillus 1 Kolonie.
Platte III. Kokken (pyogene) 5 Kolonien. Schimmel 1 Kolonie.
Platte IV. Völlige Verschmelzung der Platte. Auf der Gelatine schwimmen 3 Kolonien von pyogenes aureus.
Platte V. Schimmel 7 Kolonien. Kokken 2 Kolonien. Kartoffelbacillen 2 Kolonien.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich also, dafs der Kartoffelbacillus sowohl als der Schimmel (Pennicillum) fast immer in allen Arten von Cigarren und Cigaretten anzutreffen sind; danach kamen wesentlich weniger häufig die pyogenen Kokken und nur ab und zu der Proteus vulgaris. Die Gesamtzahl der Mikroben erweist sich jedoch geringer als bei Wernicke, der in zitierter Arbeit sich darauf beschränkte, zu bestätigen, dafs er den Bakteriengehalt der Cigarren ziemlich hoch gefunden habe.

Aus den in vorliegender Arbeit festgestellten Untersuchungen kann man die nachfolgenden Schlüsse ziehen:

1. Die Stummel der von Schwindsüchtigen gerauchten Cigarren vermögen die Tuberkulose mit Sicherheit unmittelbar nachdem sie geraucht sind und selbst bis zu zwei Wochen nachher, wenn sie am trockenen Orte aufbewahrt sind, zu übertragen.
2. Sie können nach etwa 10 Tagen diese Infektionsfähigkeit verlieren, wenn sie an feuchtem Orte aufbewahrt werden, weil es scheint, dafs das Wasser vom Tabak Substanzen auflöse, welche dem tuberkulären Keim die Virulenz, wenn nicht gar die Vitalität nehmen.
3. So viel aus den gewifs nicht zahlreichen Versuchen an den auf den Strafsen und in den Cafés aufgelesenen Stummeln,

welche negativ ausfielen, hervorgeht, ist die Gefahr der Übertragung der Tuberkulose mittels derselben selbst hier in Padua, wo leider die Morbidität der Tuberkulose übermäfsig hoch ist, relativ gering.

4. Die Untersuchungen mit in den Läden gekauften Cigarren gaben hinsichtlich der Gegenwart des Tuberkelbacillus in denselben keine positiven Resultate.
5. Der Inhalt der Keime in den Cigarren und Cigaretten erweist sich weder sehr grofs noch sehr verschiedenartig. Schimmelpilze und Kartoffelbacillen nehmen den ersten Platz ein; danach kommen dann einige Proteusarten und pyogene Kokken, deren Gegenwart vielleicht einige eitrige Erkrankungsarten erklären kann, für die die Raucher zuweilen die Cigarren anzuschuldigen pflegen.

Besitzen die flüchtigen Bestandteile von Thee und Kaffee eine Wirkung auf die Respiration des Menschen?

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann**

und

Dr. **Georg Rohrer** aus Spokane (U. S. A.).

(Referent: Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**)

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

In den beiden sorgfältigen Arbeiten mit meinen Schülern Wilhelm[1]) und Tendlau[2]) glaubte ich einwandsfrei bewiesen zu haben, dafs den Destillaten des Kaffees und Thees, also dem sog. Coffeon und ätherischen Theeöl, keine gröbere Wirkung auf den menschlichen Organismus zukomme. Weder eine Beeinflussung der Herzaktion, noch der Muskulatur, noch der Psyche liefs sich in mannigfach wiederholten Versuchen darthun.

Eine sorgfältige Kritik der älteren, von uns gesammelten Litteratur dieser Fragen ergab, dafs ernsthafte Beweise für die vielfach angenommene hohe physiologische Wirkung der flüchtigen Stoffe fehlten. Eine Reihe von Angaben trug direkt den Stempel der Unrichtigkeit. Die Versuche von Kraepelin und seinen Schülern schienen nicht das zu beweisen, was sie beweisen

1) K. B. Lehmann und Wilhelm, Besitzt das Coffeon und die coffeïnfreien Kaffeesurrogate eine kaffeeartige Wirkung? Archiv f. Hygiene, XXXII, 310.

2) K. B. Lehmann und Tendlau, Kommt den flüchtigen aromatischen Bestandteilen des Thees (Theeöl) eine nachweisbare Wirkung auf den Menschen zu? Archiv f. Hygiene, XXXII, 327.

sollten, und die auf wenige Tierversuche gestützten Ansichten von Binz fanden durch unsere Menschenversuche in keiner Weise eine Stütze. Binz hatte sich geäufsert: Kaffeedestillat erhöhte bei jungen, durch Alkohol narkotisierten Tieren in den Magen gebracht die Zahl der Herzschläge, verdoppelte die Atmung an Zahl und Stärke und verdoppelte die Hubhöhe des linken Ventrikels. Hierbei sank der Blutdruck vorübergehend, was Binz bei der gleichzeitigen Verstärkung der Druckkraft des Herzens nur auf eine bedeutende Erweiterung der Arterien zurückführen konnte.

Von einer Herzwirkung hatten wir, wie oben erwähnt, absolut nichts gesehen. Über eine Wirkung auf die Respiration enthalten die beiden oben citierten Arbeiten des Würzburger Instituts kein Wort — offenbar weil wir nicht durch die kleinste Beobachtung zur Beachtung dieses Einflusses veranlafst wurden.

Nun hat aber Binz in einer neuen Arbeit, die sich auf Versuche mit seinem Schüler Archangelsky stützt, die Frage der Wirkung der Destillate des Kaffees und Thees aufs neue untersucht und dabei Resultate erhalten, welche in wichtigen Punkten von seinen eigenen früheren wie von den unseren abweichen. Wir beziehen uns im folgenden nur auf die Binzsche Darstellung (Centralblatt der inneren Medic. 24. XI. 1900), da uns die ausführlichere Publikation von Archangelsky (Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Therapie 1900. Bd. VII p. 405—425) nicht zugänglich war.

Binz fafst seine jetzige Ansicht in folgende Sätze zusammen:

1. Das coffeïnfreie Destillat des gerösteten Kaffees hat eine deutlich steigernde Wirkung auf die Gröfse der Atmung beim Menschen.
2. Sie wurde besonders dann sichtbar, wenn der Mensch mehrere Stunden vorher ohne Nahrung geblieben.
3. Sie war nicht von langer Dauer.
4. Sie war die Folge eines Steigens der Atmungszahl, nicht einer Vertiefung der einzelnen Züge.

5. Auch an Hunden, die durch Weingeist vollkommen gelähmt waren, zeigte sich die Aufbesserung der Atmung.
6. Muskelunruhe und gelinde psychische Erregung war ebenfalls die Folge der Aufnahme des Kaffeedestillats.
7. Die Pulsfrequenz des gesunden Menschen wurde durch das Kaffeedestillat nicht verändert.
8. Das Destillat eines guten chinesischen Thees ergab am Menschen dasselbe, nur weniger stark.

Also behaupten Binz und Archangelsky im Gegensatz zu den früheren Angaben von Binz nun nicht mehr eine Wirkung auf die Pulsfrequenz, gar nicht mehr eine vasomotorische Wirkung, und die erregende centrale Wirkung wird auch nur als bescheiden dargestellt, nur eine starke Wirkung auf die Respirationsorgane wird hervorgehoben.

Natürlich war ich in hohem Mafse verwundert, dafs wir die vermehrte Respiration nicht beobachtet hatten — sagte mir aber, dafs in dieser Frage nur neue Versuche entscheiden könnten. Bei dem Versuche mufste die Suggestion möglichst vollständig ausgeschlossen sein, was bei den Experimenten von Archangelsky entschieden nicht durchweg der Fall war.

Für unsere Versuche hielten wir uns an die Angabe von Binz, dafs das vermehrte Volum der Respiration (von ihm durch eine feine Gasuhr gemessen) nicht durch die gröfsere Tiefe, sondern die gröfsere Zahl der Respirationen bedingt sei. Wir verfügten auch nicht über eine genau geaichte, zu solchen Versuchen brauchbare Gasuhr und begnügten uns deshalb, genau die Zahl der Atemzüge längere Zeit vor und nach dem Trinken festzustellen. Doch auch die Tiefe der Atmung wurde von uns nebenbei in Betracht gezogen. Wir konstruierten eine luftdichte kupferne Kapsel, die an der Vorderseite mit einer elastischen Membran bedeckt war. Dieser Apparat wurde vermittelst eines Lederriemens am Thorax befestigt und durch ein seitenständiges Rohr mit Luft aufgeblasen. Die Kapsel war mit einem schreibenden Hebelapparat so in Verbindung gesetzt, dafs derselbe jede Druckveränderung in der Kapsel, wie sie durch die

Formveränderung der Thorax bei der Inspiration bewirkt wird, auf einen rotierenden berufsten Cylinder (Kymographion) aufschrieb. Wir sind uns wohl bewufst, dafs diese Methode uns nicht gestattet, ein sicheres Urteil über die Stärke der Atmungsbewegungen des Thorax abzugeben. Aber mit diesem Instrumente konnten wir auf das genaueste die Atmungsfrequenz in der Zeiteinheit feststellen und die Atmungsgröfse — auf die ja nicht viel ankam — wenigstens einigermafsen kontrollieren. Wir haben auch andere Methoden versucht, aber sie wurden alle von uns verworfen, da jedes Anbringen von Apparaten an die Luftwege den Modus der Respiration in bedeutendem Mafse verändert. — Die fixierten Kurven wurden sorgsam ausgezählt und vielfach Mittelwerte für je fünf Minuten gebildet.

Eine Reproduktion der Kurven kann unterbleiben, da die Zahlen deutlich genug sprechen.

Zur Gewinnung der Destillate verfuhren wir genau wie bei den Versuchen mit Wilhelm und Tendlau. Wir nahmen 50 oder 100 g gerösteten pulverisierten Kaffee oder 50 g guten chinesischen Thee und brachten sie in einen Dampfstrom, welcher alle riechenden Substanzen des Kaffees und Thees durch einen langen Kühler in eine Vorlage übertrieb. Um das Destillat konzentrierter zu erhalten, wurde es nochmals destilliert.

Unser »Coffeon« war eine blafsgelbliche, fast farblose Flüssigkeit, etwas bitter und stark sauer schmeckend, von intensivem Kaffeegeruch. Das Theedestillat war farblos und roch sehr stark nach Thee. Für jeden Versuch stellten wir ein frisches Destillat her. Um den unangenehmen Geschmack des Destillats zu verbessern, wurden 5 oder 10 g Zucker zugesetzt.

Die Versuche wurden in der Weise vorgenommen, dafs das Destillat nüchtern verabreicht wurde. Unsere Versuchspersonen safsen bequem auf einem Stuhle und lasen in irgend einem Buche. Sie mufsten sich während des ganzen Versuches absolut ruhig verhalten. Es fanden Versuche an verschiedenen Personen statt, die alle nicht wufsten, um was es sich handelte.

Das Volumen des zu trinkenden Destillats betrug 200 g und die Temperatur 20 oder 33° C.

Während der Apparat, wie wir uns durch viele Kontrollen überzeugten, die Atmungsfrequenz sehr genau aufschrieb, notierten wir nebenbei das Gesamtverhalten der Versuchsperson. Zwischen den Versuchen mit dem Destillat wurden solche mit Wasser und mit Alkohol eingeschaltet. Die Versuche fanden statt im Monat Juni und Juli 1901 bei meist 20 bis 25° C.

Versuchsgruppe I.

Versuche an einem etwas nervösen 24jährigen Manne (A.), der nicht wufste, was für ein Resultat erwartet wurde.

Versuch 1.

Versuchsperson (A.) hatte seit 12½ Uhr mittags nichts mehr gegessen. Getrunken wurden 150 ccm Destillat von 50 g Thee. 15° warm.

Respiration vor dem Trunke (6 Uhr 03 Min. bis 6 Uhr 17 Min.): 22. 21. 20½. 23. 22. 22. 22. 22. Im Durchschnitt 21,8 Resp.

Trunk um 6 Uhr 18 Min.

Respiration nach dem Trunke (6 Uhr 10 Min. bis 6 Uhr 38 Min.): 19. 19. 19. 20. 20. 22. 21. 22. 22. 22. 23. 22. 23. 22. 23. 22. 22. 23. 21. Im Durchschnitt 21,4.

Ergebnis: Die Respiration ist um 1% verlangsamt. Berücksichtigen wir die ersten 3 Zahlen (19. 19. 19.) nicht, so ergibt sich 21,8 — d. h. genau die Zahl wie vor dem Trunk. Die Tiefe der Respiration konnte in diesem Versuche nicht genau untersucht werden — sie schien nicht vermehrt.

Versuch 2.

Kontrolle zu Versuch 1. Die Versuchsperson A. (seit Jahren abstitent.) trank, um eine Substanz zu versuchen, an deren Wirkung auf die Respiration wir nicht zweifelten, 35 g Alkohol in 200 ccm Wasser mit 10 g Zucker versüfst. Letzte Mahlzeit um 12 Uhr 30 Min.

Respiration vor dem Trunke (6 Uhr 35 Min. bis 6 Uhr 42 Min.) 22. 22. 21. 22. 22. Im Durchschnitt 21,8.

Trunk um 6 Uhr 43 Min.

Respiration nach dem Trunke (6 Uhr 45 Min. bis 7 Uhr 11 Min.): 22. 25. 23. 22. 22. 23. 24. 28. 28. 25. 27. 29. 26. 24. 28. 26. 28. 30. 28. 28. 27. 26. Im Durchschnitt 25,7.

Ergebnis. Eine bedeutende Beschleunigung der Respiration um ca. 17% war unverkennbar. Die subjektiven Symptome der Alkoholvergiftung während des Versuchs (Depressionsgefühl, Unfähigkeit mit Aufmerksamkeit zu lesen) und nach dem Versuch Abspannung, Kopfweh waren sehr deutlich. Objektiv fielen zahlreiche kleine unfreiwillige Muskelbewegungen auf.

Versuchsperson A. war im allgemeinen nicht sehr geeignet, da sie zu viel Interesse für den Versuch hatte, durch jede Öffnung der Thüre des Versuchszimmers ein wenig erregt wurde, was sich auch in der Respiration vorübergehend ausdrückte. Jedenfalls war die Wirkung des Kaffeedestillats unmerklich.

Versuchsgruppe II.

Versuche an einem kräftigen, an Alkohol und Kaffee nicht gewöhnten intelligenten ca. 30jährigen Mann, der keine Ahnung hatte, um was es sich handelte, und sich aus Gefälligkeit zu den Versuchen hergab. Alle Versuche wurden vormittags angestellt, nachdem die Versuchsperson um 6 Uhr früh 1 Tasse Milch und ein Brötchen — dann nichts mehr — genossen.

Versuch 3.

Es wurde 200 ccm Flüssigkeit getrunken, welche durch Destillation von 100 g Kaffeepulver gewonnen war. Temperatur des Destillats 33°.

Respiration vor dem Trunke (9 Uhr 10 Min. bis 10 Uhr): 9. 9. 10. 8,5. 8. 8. 8. 8. 8. 8. 9. 10. 10. 10. 11. 12. 12. 12. 12. 11. 10. 11. 11. 10. 11. 10. 8,5. 8. 10. 10. 11. 11. 9,5. 9,5. 10. 10. 10. 10. 10,5. 10,5. 10. 10,5. 10. 10. 11. Im Durchschnitt 9,9.

Trunk um 10 Uhr 1 Min.

Respiration nach dem Trunke (10 Uhr 2 Min. bis 10 Uhr 45 Min.): 10. 10,5. 10,5. 9. 11. 11. 11. 11. 11. 11. 10. 10. 10. 10. 9. 10. 9. 10. 10. 10. 10. 10. 10,5. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 11. 10. 11. 11. 11,5 10. 10. 10. 10. 10. 10. Im Durchschnitt 10,2.

Ergebnis: Das Trinken des Kaffeedestillats hat bei dem auffallend langsam aber nicht sehr regelmäfsig atmenden Manne eine durchschnittliche Vermehrung der Respirationszahl um 3% hervorgebracht, wenn man längere Zeiten ins Auge fafst. Ein ebenso geringer Einflufs ergibt sich, wenn man kürzere Zeiten nach dem Trunke mit solchen vor dem Trunke vergleicht. Die Respiration war nach dem Trinken nicht vertieft, das subjektive Befinden nur insoweit beeinflufst, als über Kratzen im Halse nach dem Trinken und über etwas Müdigkeit und Schläfrigkeit durch die gezwungen ruhige Körperhaltung geklagt wurde.

Versuch 4.

Trinken von 200 g Destillat von 33° aus 100 g pulv. Kaffee.

Respiration vor dem Trunke (8 Uhr 15 Min. bis 8 Uhr 39 Min.): Mittel aus 14 Zähltagen 12.

Trunk 8 Uhr 40 Min.

Respiration nach dem Trunke (8 Uhr 41 Min. bis 9 Uhr 49 Min.): Die Zahlen sind Fünfminutenmittel, d. h. Mittel aus je 5 Zählungen: 12,2. 12,3.

13,3. 13,4; 13,4. 13,3. 13,3. 13,3. 13,1; 11,4; 12,2; 12,6; 11,4. 11. Also im Gesamtmittel: 12,6.

Ergebnis: Es trat bei diesem Versuch eine Zeitlang eine Beschleunigung der Respiration um circa 10% ein, doch ist das Mittel aus der Stunde nach dem Trinken nur etwa 5% höher als vor dem Versuch. Versuchsperson klagt über etwas Ermüdung durch den Versuch. Sonst keine subjektiven Wahrnehmungen. Die Respiration war weder objektiv noch subjektiv vertieft.

Versuch 5.

Kontrollversuch an der gleichen Person mit 200 ccm 33° warmen Wassers, dem 10 g Zucker zugefügt waren. Frühstück 6 Uhr 30 Min. aus einer Tasse Milch und ein Brötchen, seitdem nüchtern.

Respiration vor dem Trunke (8 Uhr 40 Min. bis 9 Uhr: 11. 11. 11. 10. 10. 11. 11. 11. 11. 10,5. 11,5. 11. 11. 10,5. 11,5. 10. 10. 10. 10,5. 10,5. Im Mittel 10,7.

Trunk 9 Uhr 2 Min.

Respiration nach dem Trunke (9 Uhr 3 Min. bis 9 Uhr 33 Min.): 12. 13. 11. 12. 10. 12. 10. 10. 10. 12. 13. 13. 13. 13. 12. 13. 12,5. 13. 14. 13,5. 14. 12. 12. 11,5. 12,5. 12. 12. 12. 12. Im Mittel 12.

Ergebnis: Es trat also in diesem Versuch, in dem nur Wasser getrunken wurde, eine deutliche geringe Beschleunigung der Respiration hervor, nur 13% — welche aber kaum jemand auf das Wassertrinken schieben wird.

Versuch 6.

Es wurden getrunken 20 g Alkohol absol. in 200 g Wasser von 30°.

Respiration vor dem Trunke (8 Uhr 40 Min. bis 8 Uhr 59 Min.): Wir teilen blofs die Fünfminuten-Mittel mit: 10. 10,2. 10,4. 10,2. Gesamtmittel 10,2.

Trunk 9 Uhr.

Respiration nach dem Trunke (9 Uhr 1 Min. bis 9 Uhr 59 Min.): Fünfminuten-Mittel: 9,9. 10,5. 10,6. 11,3. 16,1. 17,2. 16,8. 13,6. 9,8. 9,4. 9,6. 11,3.

Ergebnis: Die hohen Zahlen 16,1. 17,2. 16,8 beziehen sich auf die 5., 6. und 7. Fünfminutenperiode. Während dieser Zeit schlief die Versuchsperson, wobei die Atmung oberflächlicher und ziemlich unregelmäfsig wurde. Während der 8. Periode erwachte die Person, wonach von Minute zu Minute die Respiration sank 16. 17. 14. 11. 10. 9 wurden nacheinander gezählt. Läfst man diese, durch den Schlaf beeinflufsten Werte weg — so ergibt sich als Mittel 10,3. Fast genau die Anfangszahl.

Es ist also bei Person B. einmal durch reichliches Kaffeedestillat eine Vermehrung der Respiration von 3%, einmal von 5 resp. 10% eingetreten. Wasser allein ergab aber eine Beschleunigung von 13% und ein Versuch mit einer mäfsigen Alkoholdosis gab nur so lange Beschleunigung, als B. infolge des Alkoholgenusses schlief.

Versuchsgruppe III.

Alle Versuche dieser Gruppe sind an einem gesunden 12jährigen Mädchen angestellt, das natürlich von der Fragestellung keine Ahnung hatte. Dasselbe zeigte eine recht regelmäfsige Atemfrequenz und las während der Versuche eifrig in Jugendschriften. Alle Versuche wurden abends zwischen 5 und 7 Uhr angestellt, nachdem das Kind seit 12 Uhr nichts mehr genossen hatte.

Versuch 7.

Es wurden 150 ccm konzentriertes Kaffeedestillat aus 50 g Kaffee genossen. Temp. 20°. 5 g Zucker zugesetzt.

Respiration vor dem Trunke (5 Uhr 40 Min. bis 6 Uhr): 20. 20. 20. 19. 20. 19. 21. 19- 19. 19. 19. 21. 19. 22. 19. 19. 19. 20. 20. 20. Im Durchschnitt 19,7.

Trunk 6 Uhr.

Respiration nach dem Trunke (6 Uhr 3 Min. bis 6 Uhr 36 Min.): 21. 20. 20. 21. 22. 21. 21. 21. 19. 20. 20. 20. 20. 20. 20. 21. 20. 22. 22. 20. 20. 22. 22. 22. 22. 21. 21. 21. 21. 21. 22. 22. 21. 20,5. Im Durchschnitt 20,8.

Ergebnis: Nach dem Trinken Vermehrung der Respiration etwa um 6%. Keine Veränderung der Respirationstiefe.

Versuch 8.

Es wurden 150 ccm konzentriertes Kaffeedestillat aus 50 g Kaffee und 5 g Zucker auf 20° erwärmt getrunken.

Respiration vor dem Trunke (5 Uhr 21 Min. bis 5 Uhr 54 Min.) Fünfminuten-Mittel: 23. 21,6. 20,6. 19,8. 19,2. 20,7. Gesamtmittel 20,8.

Trunk 5 Uhr 55 Min.

Respiration nach dem Trunke (6 Uhr bis 6 Uhr 35 Min.) Fünfminuten-Mittel: 20,4. 21,4. 19,2. 20,4. 19,2. 20,4. 21. 20,2. 20. Gesamtmittel 20,2.

Ergebnis: Verminderung der Respirationsfrequenz nach dem Trinken um 2½%. Die Respiration war die ersten 2—3 Minuten nech dem Trinken etwas vertieft, ging aber dann sofort wieder auf die Norm zurück.

Versuch 9.

Es wurde diesmal das auf 200 ccm konzentrierte Destillat von 100 g Kaffeepulver genossen, mit 10 g Zucker versüfst und auf 33° erwärmt. Das Destillat roch enorm stark nach Kaffee und wurde ohne besonderes Mifsbehagen getrunken.

Respiration vor dem Trunke (4 Uhr 45 Min. bis 5 Uhr 19 Min.). Fünfminuten-Mittel: 14,2. 15,6. 16. 16,5. 16,5. 16,6. 17,8. Gesamtmittel 16.

Trunk 5 Uhr 20 Min.

Respiration nach dem Trunke (5 Uhr 21 Min. bis 6 Uhr 44 Min.). Fünfminutenmittel: 16,6. 15,4. 15. 14,6. 15,3. 15. 16,4. 15,8. 17. 15,2. 15,8 17. 16,2. 14,5. 15,2. 17. 16,7. Gesamtmittel 15,8.

Ergebnis: Auch diese gewaltige Dosis Kaffeedestillat war ohne Wirkung auf die Respirationsfrequenz, auch die Respirationsgröfse war nicht merklich verändert. Irgendwelche subjektive Symptome fehlten. — Nicht ohne Interesse und eine Mahnung, auf kleine Differenzen nicht zu viel zu geben, ist das langsame Ansteigen der Respiration während der Beobachtungen vor dem Trinken. Von 14,2 bis 17,8 stieg die Respiration ziemlich konstant. Das Trinken brachte geradezu einen Abfall der Respiration in den ersten 20 Minuten hervor. Es scheint denkbar, dafs der Durst und seine Stillung eine Rolle bei dieser Beobachtung spielt.

Versuch 10.

Es wurden 200 g Destillat aus 50 g Thee getrunken, mit 10 g Zucker versüfst und auf 33° erwärmt.

Respiration vor dem Trunke (5 Uhr bis 5 Uhr 29 Min.) Fünfminuten-Mittel: 19,2. 19. 19,2. 20,6. 19,2. 20. Gesamtmittel 19,5.

Trunk 5 Uhr 30 Min.

Respiration nach dem Trunke (5 Uhr 31 Min. bis 6 Uhr 36 Min.) Fünfminuten-Mittel: 17,2. 18,5. 18,4. 18,2. 18,8. 18,6. 19. 18,6. 18. 17,8. 18. Gesamtmittel 18,5.

Ergebnis: Nach dem Trinken tritt eine unzweifelhafte Verminderung der Respirationsfrequenz um 5%, ein, die Respiration ist nicht vertieft.

Versuch 11.

Trinken von 150 ccm Theedestillat aus 50 g Thee, mit 10 g Zucker auf 33° erwärmt.

Respirationsfrequenz vor dem Trunke (5 Uhr 47 Min. bis 6 Uhr 45 Min.) sehr regelmäfsig. Durchschnitt 20.

Respirationsfrequenz nach dem Trunke (5 Uhr 47 Min. bis 6 Uhr 45 Min.): 21. 20. 19. 19. 20. 20. 20. 20. 20. 21. 21. 21. 21. 21. 21. 21. 21. 20. 19. 19. 19. 20. 20. 20. 20. 21. 21. 21. 21. 22. 21. 21. 21. 20. 21. 22. 21. 21. 22. 20. 20. 20. 19 19. 19. 19. 19. 19. 19. 19. 19. 19. 19. Im Durchschnitt 20,2.

Es blieb also die Atmung im wesentlichen konstant — eine kurz dauernde Vermehrung der Atemzüge um 5% wechselte mit einer Abnahme um die gleiche Gröfse.

Versuch 12.

Diesmal wurden nur 200 ccm Wasser mit 10 g Zucker getrunken. Temp. 33°. Respiration, was Frequenz und Tiefe anlangt, etwas unregelmäfsiger, als es bei dem Kinde sonst der Fall zu sein pflegte.

Respirationsfrequenz vor dem Trunke (4 Uhr 55 Min. bis 5 Uhr 24 Min.) Fünfminutenwerte: 16,6. 17. 17. 18. 19,2. 18. Gesamtmittel 18.

Trunk. Respirationsfrequenz nach dem Trunke (5 Uhr 25 Min. bis 5 Uhr 44 Min. Fünfminutenwerte: 18,4. 18,6. 18,4. 18. Gesamtmittel 18,3.

Ergebnis: Kein merklicher Unterschied in der Respirationsfrequenz vor und nach dem Trinken.

Fassen wir unsere Ergebnisse in eine Tabelle zusammen, so ergibt sich:

	Versuche	Dauer des Versuches			Tageszeit	Wie lang nüchtern	Quantum und Qualität der Flüssigkeit	Temperatur der Flüssigkeit	Veränderung der Atmung in Prozent
		Gesamtzeit	Vor dem Trunk	Nach dem Trunk					
Person I	1	34 Min.	12 Min.	21 Min.	6^{06} Uhr bis 6^{39} Uhr	$5^1/_2$ Std.	150 ccm Theedestill. aus 50 g Thee	15° C.	— 1%
	2	37 »	8 »	27 »	6^{35} » » 7^{11} »	6 »	35 g Alkohol absol. verd. i. 200 g H_2O	—	+ 17 »
Person II	3	96 »	44 »	51 »	9^{10} » » 10^{45} »	3 »	200 g » 100 » »	33° C.	$3^1/_2$ »
	5	54 »	22 »	30 »	8^{40} » » 9^{33} »	2 »	200 » Wasser	»	+ 13 »
	4	94 »	25 »	69 »	8^{15} » » 9^{49} »	$2^1/_2$ »	200 » Kaffeedestill. a. 100 g Kaffee	»	5 »
	6	80 »	20 »	59 »	8^{40} » » 9^{59} »	3 »	20 » Alkohol abs. in 200 H_2O verd.	ca. 30° C.	+ 20 »
Person III	7	56 »	21 »	33 »	5^{40} » » 6^{38} »	5 »	150 » Kaffeedestill. a. 50 g p. Kaffee	ca. 20° C.	+ 6 »
	8	75 »	34 »	36 »	5^{21} » » 6^{35} »	5 »	150 » » » 50 g »	»	$-2^1/_2$ »
	11	64 »	8 »	53 »	5^{47} » » 6^{50} »	5 »	150 » Theedestillat » 50 g Thee	ca. 33° C.	+ 1 »
	10	101 »	30 »	70 »	5^{00} » » 6^{40} »	5 »	200 g » » 50 g »	33° C.	0 »
	12	90 »	50 »	49 »	4^{55} » » 6^{34} »	$5^1/_2$ »	200 g Wasser	»	+ 2 »
	9	120 »	35 »	84 »	4^{45} » » 6^{44} »	5 »	200 g Kaffeedestill. a. 50 g Kaffee	»	0 »

Aus der Tabelle geht klar hervor:

Weder Theedestillat noch Kaffeedestillat haben auf die Atmungszahl unter den von uns eingehaltenen Bedingungen irgend einen nennenswerten vorübergehenden oder bleibenden Einflufs gezeigt. Frequenzänderungen um 2—6% sind mehrfach beobachtet, aber auch in den Versuchen mit Wassertrinken haben wir einmal eine Frequenzsteigerung um 13% konstatiert, wir können also darauf nichts geben. Irgend eine Fehlerquelle bei unseren geduldig und umsichtig angestellten Versuchen scheint ausgeschlossen — jedenfalls spielt die Suggestion keine Rolle. Die Versuche stimmen vortrefflich zu den früher von mir mit den Herren Wilhelm und Tendlau erhaltenen Resultaten. Wirkungen auf Atemgröfse, Psyche und Muskelgefühl fehlen so vollständig wie bei unserer früheren Versuchsreihe. Ein 12jähriges Mädchen und 2 Männer verhielten sich genau gleich.

Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot.

X. Neue Studien über die Acidität des Brotes, ihre Ursachen und ihre beste Bestimmungsmethode.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Seit ich im Herbste des Jahres 1893 meine erste Arbeit[1]) über das vorliegende Thema veröffentlichte, habe ich mehrfach gesucht, die erhaltenen Resultate zu erweitern und zu vertiefen. Die Ergebnisse dieser Studien sollen die folgenden Zeilen bringen, welche meine Vorstellungen über die Brotsäuren nicht unwesentlich genauer gestalten.

Die im folgenden mitzuteilenden Zahlen sind meist Mittel aus recht gut stimmenden Doppelanalysen. Einige der Werte haben nach folgendem Prinzip eine kleine rechnerische Korrektion erfahren:

Es sei G = Acidität des Gesamtbrotes (Brotbrei mit Phenolphthalëin auf blafsrote Farbe titriert).
R = Acidität des mit Ather erschöpften Rückstandes.
A = Acidität des Ätherextrakts.
F = Acidität der flüchtigen Säuren.

1) Hygienische Untersuchungen über Mehl und Brot. III. Qualitative und quantitative Untersuchungen über den Säuregehalt des Brotes. Dieses **Archiv, XIX,** S. 363.

O = Acidität der öligen nichtflüchtigen wasserunlöslichen Säuren.

M = Acidität der wasserlöslichen unflüchtigen Säuren (Milchsäure).

Es ist nun ab und zu A etwas kleiner als $G—R$ gefunden worden, offenbar, wie zahlreiche Kontrollversuche angaben, weil eine absolut vollständige Kondensation der überdestillierten flüchtigen Säuren ohne Eiskühlung der Vorlage schwierig ist. In diesen Fällen habe ich statt des gefundenen A eingesetzt $G—R$. Weiter habe ich (auf S. 219) angenommen, wenn ich durch Destillation A in $F + O + M$ zerlegt hatte, $F + O + M$ müfsten gleich $G—R$ sein. Fehlte daran ein wenig, so habe ich F um soviel vermehrt, dafs dieses Postulat erfüllt ist. Immerhin unterscheiden sich die so korrigierten Zahlen nur ganz unwesentlich von den direkt gefundenen.

I. Die Löslichkeit der Brotsäuren in Äther.

Nach den a. a. O. S. 380 veröffentlichten Analysen war es mir bei 3—8 tägiger Extraktion im Soxhletschen Apparat gelungen, 36—67% meist 50—60% der Säure (gemessen durch Normallauge) zu extrahieren und zwar schien es nach einigen Versuchen, als ob die Prozentzahl der ätherlöslichen Säure nicht wesentlich höher ausfalle, ob man 8 oder 3—5 Tage extrahiere.

Seitdem habe ich in 12 neuen Versuchen die Extraktion weit länger, d. h. stets 2—4 Wochen, ausgedehnt und gefunden, dafs sehr langsam immer weitere Anteile der Gesamtacidität in die ätherische Lösung übergehen.

In tabellarischer Übersicht sind die Resultate folgende — die Versuche sind fast alle mit guter Übereinstimmung doppelt angestellt — und Mittelzahlen mitgeteilt. Zur Extraktion wurden nie unter 50 g (öfters 100 g) Brot benutzt, während in den früheren Versuchen 25, ja einige Male nur 10 g Brot verwendet waren.

Es enthielten 100 g frische Krume:

Tabelle I.

		Normalsäure in ccm		Prozente		
		Äther-löslich	Äther-unlöslich	in Äther löslich	in Äther unlöslich	
Weifsbrot	I.	—	—	53,1	46,9	
	II.	2,5	0,9	79	26,5	
	III.	4,35	1,7	72	28	
	IV.	—	—	—	—	
Graubrot	I.	5,0	2,4	68	32	
	II.	—	—	76	24	
	III.	5,5	2,3	70,5	29,5	
	IV.	7,2	2,2	77	23	
	V.	6,1	1,7	78	12	
	VI.	4 9	2,4	67	33	ob lange genug extrahiert
	VII.	—	—	—	—	
Sauerbrote d. h. Graubrote von um 24 St. verlängerter Gärdauer	Ia.	—	—	—	—	
	I.	15,3	3,2	83	17	
	II.	12,8	1,8	86,0	14,0	
	III.	12,4	2,2	85	15	
	IV.	10,8	2,8	79	21	
	Va.	—	—	—	—	
	V.	12,45	1,75	88	12	

Das heifst in kurzen Worten: Bei vollständiger Erschöpfung mit Äther geht im allgemeinen ein um so gröfserer Teil der Gesamtacidität in Lösung, je gröfser die Gesamtacidität ist. Aus Weifsbrot (Gesamtacidität 3,4—6) lösen sich 53—72%, aus mäfsig saurem Graubrot (Gesamtacidität 8—9) 68—78%, aus stark saurem Graubrot 79—88% der Gesamtsäure in Äther.

Ich hatte diese Nachprüfung meiner früheren Resultate aus eigenem Antrieb gemacht und konstatiere, dafs, während ich allmählich zur Erkenntnis kam, wie schwer sich die Säuren mit Ather aus dem Brote vollständig extrahieren lassen, gleichzeitig auch Mats Weibull[1]) und bald darauf Polenske[2]) die Erfah-

1) Mats Weibull, Zeitschrift für angew. Chemie, 1892, S. 450.

2) Polenske, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, Bd. VIII, S. 678.

rung machten, dafs auch das Fett mit einem Soxhlet-Apparat in einigen wenigen Extraktionen nur ganz unvollkommen aus Brot extrahiert werde. Die beiden genannten Forscher erleichterten sich die Extraktion, indem sie die Stärke und das Dextrin invertierten und erst darauf das Fett — aus der wieder getrockneten Masse (Weibull) oder aus der wäfsrigen invertierten Substanz selbst (Polenske) mit Äther oder Chloroform extrahierten.

Diese Methode konnte mir nichts helfen, ich war auf geduldiges Extrahieren der Trockensubstanz angewiesen, das ich dadurch zu fördern suchte, dafs ich nach 2tägiger Extraktion der vorher fein zerbröckelten Masse dieselbe aus dem Extraktionsapparat herausnahm und nun so fein wie möglich zerrieb.

Eine 3—4 Wochen dauernde Atherextraktion setzt voraus, dafs einige Vorsichtsmafsregeln beobachtet werden, wenn nicht der ganze Vorteil der verlängerten Extraktion illusorisch werden soll. Ich teile meine Erfahrungen in dieser Richtung mit.

1. Die Extraktionsapparate müssen tadellos schliefsen. Ist dies nicht der Fall, so entweicht mit dem verdampfenden Äther stets auch nicht allzuwenig flüchtige Säure.

2. Eine vollständige Extraktion mit dem Soxhlet-Apparat mifslang stets, wenn nicht der Äther zuweilen erneuert wurde. Ich kann mir dies nur so erklären, dafs die aufsteigenden Ätherdämpfe auch Säure aus dem Ätherkölbchen mit in die Höhe reifsen, dafs also das Brot nicht von reinem kondensierten Äther, sondern von säurehaltigem Äther durchzogen wird.

Ich will zur Veranschaulichung des Gesagten und gleichzeitig als Beispiel für die Schwierigkeit der Extraktion auch unter den günstigsten Verhältnissen einen meiner Versuche hersetzen.

In 6 grofsen Soxhlet-Apparaten mit je 50 g frischem Graubrot in fein zerpflücktem Zustande beschickt, wurde gleichzeitig mit neutralem wasserfreiem Ather die Extraktion begonnen. Die Apparate blieben täglich 8 Stunden in Thätigkeit. Auch wenn nicht extrahiert wurde, flofs durch die ausschliefslich verwendeten Glaskühler Kühlwasser. Die Titrierungen wurden mit $^1/_5$ Normalnatronlauge ausgeführt und auf Normalnatronlauge umgerechnet.

Dauer	Alle 1—3 Tage wird der Äther gewechselt und sofort titriert		Alle 1—3 Tage wird der Äther gewechselt, die abgegossenen Proben werden gesammelt		Der Äther wird während des ganzen Versuchs nicht gewechselt, nur bei V wird einmal Äther wegen Verdunstung nachgefüllt	
	Apparat I	Apparat II	Apparat III	Apparat IV	Apparat V	Apparat VI
2 Tage	1,4	1,9	Schließt anfangs nicht tadellos		Die Notwendigkeit, Äther nachzufüllen, beweist schlechtes Schließen	
1 »	0,5	0,5				
1 »	0,3	0,3				
1 »	0,7	0,3				
2 »	0,2	0,2				
2 »	0,17	0,17				
2 »	0,15	0,15				
2 »	0,09	0,12				
3 »	0,07	0,1				
16 Tage	3,58	3,74	3,08	3,4	2,13	2,8
Acidität des erschöpften Brotes	1,1	1,0	1,0	1,3	1,75	1,61
	4,68	4,74	4,08	4,7	3,88	4,41

Acidität von 50 g Brot direkt mit Wasser zu Brei angerührt und titriert = 4,8 Normalsäure.

Die Versuche beweisen sehr schön, daſs am 16. Tag der Ätherextraktion immer noch etwa 1 % der Ätheracidität pro Tag extrahiert wird, daſs bei gut schlieſsenden Apparaten (I, II, IV, VI) die Summe der Ätheracidität + Rückstandsacidität gleich der direkt durch Titrieren des Brotbreis gefundenen Gesamtacidität (4,7) ist, daſs aber ohne Ätherwechsel die Extraktion unvollständig ist (V, VI), und daſs schlechtes Schlieſsen des Apparates flüchtige Säure zu Verlust gehen läſst.

2. Woraus besteht der ätherlösliche Anteil der Brotacidität?

Ich hatte in meiner früheren Arbeit gefunden, daſs sich der in Ather lösliche Anteil der Brotacidität zerlegen läſst:

1. in flüchtige Säuren, von denen namentlich Essigsäure nachgewiesen wurde, daneben Spuren von Ameisensäure, bisher keine Buttersäure;
2. in nichtflüchtige äther- und wasserlösliche Säuren, die ich als Milchsäure identifizierte,

3. in eine in wechselnden Mengen auftretenden höheren Fettsäure, nicht flüchtig, in Wasser unlöslich.

In der Mehrzahl der Analysen betrug (S. 390) der Gehalt an flüchtigen Säuren nahezu $^2/_3$ der gesamten Ätheracidität, einmal sank er auf 42,9%, einmal stieg er auf 76%, ohne dafs ein gesetzmäfsiger Zusammenhang zwischen der Brotbeschaffenheit und dem Überwiegen der flüchtigen oder der nichtflüchtigen Säure deutlich hervorgetreten wäre.

Die neuen Ergebnisse sind: Der Ätherextrakt bestand aus

		flüchtiger Säure	nicht-flüchtiger Säure	Von der nichtflüchtigen Säure waren in Wasser unlöslich	löslich
		%	%	%	%
Weifsbrot	I.	55,9	44,1	14,7	29,4
	II.	53,4	46,6	12,1	34,5
Graubrot	II.	69,0	31,0	4,0	27,0
	IV.	85,0	15,0	6,6	8,4
	V.	65,4	34,6	13,1	21,5
Graubrot von verlängerter Gärdauer (Sauerbrot)	I.	42,0	58,0	—	—
	III.	41,7	58,3	2,3	56,0
	V.	38,2	61,8	1,0	60,8

Die Destillation der ätherischen Lösung wurde zur Gewinnung dieser Zahlen meist 5 Mal unter Zusatz von etwas Wasser betrieben. Ein Beispiel zeigt die Ergebnisse:

1. Destillat, meist Äther	0,2 $^1/_{10}$ N. L.
2. Destillat	7,8
3. »	3,0
4. »	1,8
5. »	1,0
6. »	0,4
Flüchtig in Summa	14,2
Im Rückstand wasserlösliche Säure	2,2
Ölige wasserunlösliche Säure	1,4
	17,8.

In einer Reihe von Fällen, wo eine ätherische Säurelösung zur einen Hälfte direkt titriert, zur anderen Hälfte destilliert und die Acidität der Destillate addiert wurde, ergab sich ein gewisser Verlust an Säure. Besondere Versuche zeigten mir denn auch, dafs man bei Destillation von verdünnter Essigsäure leicht auch Verluste erhalten kann.

Es wurden 30 ccm $^1/_{10}$ Normalessigsäure mit 1 l Wasser und 2 ccm Olivenöl gemischt, destilliert und erhalten:

25,2 26,2, als die Vorlage nicht in Eis lag,

28,6 29,0, als die Vorlage in Eis lag.

Daraufhin habe ich, wo die Menge der flüchtigen Säure hinter der Differenz Gesamtsäure des Ätherauszugs minus nichtflüchtiger Säure zurückblieb, die Zahlen so mitgeteilt, dafs ich die Menge der Gesamtsäure und die Menge der nicht flüchtigen Säure für richtig annahm und die flüchtige Säure durch Differenz ermittelte. Der Unterschied der berechneten und gefundenen flüchtigen Säure betrug meist nicht über 5%, seltener bis 10%.

Mit den früheren Ergebnissen zusammengehalten, berechtigen die heute mitgeteilten Resultate entschieden zu dem Schlufs, dafs Verlängerung der Gärdauer namentlich geeignet ist, den Milchsäuregehalt des Brotes zu steigern.[1])

Über die ölige, in Wasser unlösliche Säure habe ich keine neuen besonderen Studien angestellt, sondern nur thunlichst zu vermeiden gesucht, durch meine Versuchsanordnung das Fett des Brotes zu spalten. Es wurde deshalb in diesen neuen Versuchen die ölige, nach Verjagen des Äthers entstehende Schicht stets sofort abfiltriert. Allerdings gelang dies in einigen Fällen nur unvollkommen, da die Flüssigkeit zuweilen ölig trübe durch die Filter ging und auch in möglichst gut abgekühltem Zustande die Abtrennung der fettigen Masse Schwierigkeit machte. Es ist mir dadurch gelungen, die Rubrik: »in Wasser unlösliche, nicht

1) Damit steht in Übereinstimmung, dafs Barthel (Centralbl. f. Bakt., Abs. II, Bd. VI, S, 418) nachgewiesen hat, dafs Bact. Güntheri in der Milch mehr Essigsäure bildet, wenn der Luftzutritt erleichtert ist. Bei länger andauernder Gärung dürfen wir uns wohl die Gärung im Innern des Brotteigs als einen ganz anaërob verlaufenden Vorgang denken, bei dem die Milchsäurebildung gegenüber der Essigsäurebildung stark begünstigt ist.

flüchtige Säure« in der Mehrzahl der Fälle auf ein sehr bescheidenes Mafs herabzusetzen. Die Thatsache, dafs der Gehalt an der öligen Säure überall absolut ziemlich gleich, der prozentische Gehalt deshalb in den sehr säurearmen Weifsbroten am höchsten, in den Sauerbroten am niedrigsten (1—2,3% des Ätherextrakts) ist, beweist, dafs diese Säure, deren Menge der Gärungsintensität durch Spaltpilze somit nicht proportional ist, offenbar nicht durch Gärung entstanden ist. Meine Vermutung, dafs es sich um ein Spaltungsprodukt des Mehlfettes handelt, ist wohl sicher richtig. Es liegt der Verdacht nahe, dafs die Spaltung des Fettes vielleicht durch die Methode der Darstellung hervorgerufen ist.

Durch einige Versuche habe ich deshalb speziell untersucht, ob durch langen Aufenthalt in einem zu Destillationszwecken erhitzten Kolben voll Wasser neutrales Fett gespalten wird.

2 ccm neutrales Olivenöl werden mit 1000 ccm Wasser und 30 ccm $^1/_{10}$ Normalessigsäure destilliert; als nur noch wenig Wasser im Destillationskolben ist, wird das Fett gesammelt, sehr gut mit warmem Wasser gewaschen. Seine Acidität beträgt in zwei Fällen: 0,6 und 0,5 $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Das Ergebnis beweist deutlich, dafs die Fettspaltung unter diesen Bedingungen nicht ausreicht, um die gefundene ölige Säure zu decken, zu deren Entstehung ja natürlich mannigfache andere Gelegenheiten gegeben sind.

3. Wodurch wird die Acidität des mit Äther erschöpften Brotes bedingt?

In meiner ersten Mitteilung hatte ich angegeben, dafs meist etwa 40–50% der Gesamtsäure des Brotes in Ather unlöslich sei. Diese Angabe ist oben (Tabelle I) dahin berichtigt, dafs bei lang fortgesetzter, möglichst vollkommener Ätherextraktion nur 12—33, nur einmal 47% ungelöst zurückbleiben. Der zurückbleibende Säurebetrag ist nicht nur absolut gering, sondern auch bei sehr verschiedenen Brotsorten und sehr verschiedenem absolutem Säuregehalt von ziemlich gleicher absoluter Höhe, meist

1,7—2,4 ccm Normalsäure, nur einmal ist 0,9, einmal 2,8, einmal 3,2 ccm beobachtet.

Diese grofse Übereinstimmung in der Menge des Säurerückstandes macht die Richtigkeit meiner in der ersten Arbeit ausgesprochenen Ansicht sehr wahrscheinlich, dafs saure Phosphate an dieser Acidität schuld seien.

Ich habe nun auf sehr verschiedenen Wegen versucht, die Bedeutung der Phosphate für die Acidität der Rückstände direkt genauer zu prüfen.

Erstens wurde die Wasserlöslichkeit der Säure in den mit Äther erschöpften Rückständen geprüft. War die Acidität ganz auf Monophosphate zu beziehen, so mufste dieselbe in Wasser löslich sein.

Zur Wasserextraktion bediente ich mich folgenden Apparates, durch den ich Soxhlets Ätherextraktion nachahmte:

Ich liefs aus einer Mariotteschen Flasche frisch selbstdestilliertes Wasser mittels Quetschhahn tropfenweise auf die in einem Soxhlet-Apparat befindliche Brotmasse fallen. Der Apparat spielte meist ganz wie bei der Ätherextraktion, d. h. er entleerte sich periodisch, seltener funktionierte der Apparat unregelmäfsig, und es flofs das Wasser tropfenweise in die Sammelflasche ab.

Ich war mit dieser Methode aufserordentlich zufrieden: 1 l Wasser in etwa 8 Stunden die Brotprobe durchtropfend, nahm meist alle überhaupt an Wasser übergehende Säure auf, allerhöchstens mufste ein zweiter Liter angewendet werden.

Bei diesen Versuchen war es durchaus notwendig, den Säuregehalt in Betracht zu ziehen, den ein Liter des gleichen Wassers in der gleichen Weise im gleichen Raume durch einen leeren Soxhlet-Apparat tropfend zeigte, und diese Menge vom Versuchsresultat abzuziehen.

Das Resultat dieser Versuche war, dafs der gröfste Teil der an Äther nicht übergehenden Säure des Brotrückstandes wasserlöslich ist, ein kleiner Rest widersteht der Lösung durch Äther wie durch Wasser.

Ich gebe zwei Beispiele:

		Normalnatron
Weifsbrot:	Gesamtacidität	2,8,
	ätherlöslich	1,9,
	vom Rückstand wasserlöslich .	0,7,
	vom Rückstand wasserunlöslich	0,2.

		Normalnatron
Graubrot:	Gesamtacidität	7,8,
	ätherlöslich . . . . , . . .	6,4,
	vom Rückstand wasserlöslich .	1,24,
	vom Rückstand unlöslich . .	0,16.

Diesen kleinen Rest von 0,16—0,2 ccm Natronlauge auf 100 Brot dürfen wir wohl ohne Bedenken auf Eiweifs beziehen, das ja wie eine schwache Säure Basen anlagert. Es sei gleich hier bemerkt, dafs dabei für Lackmus und Phenolphthalein als Indikator keine Titerdifferenzen erhalten wurden, und dafs Titrierungen von käuflichem Albumin und Kasein ebenfalls kleine Acidität und keinen Einflufs des Indikators auf das Titrierresultat ergaben. So verbrauchte 1 g Albumin 0,09 ccm, 1 g Kasein 0,14 ccm Normalsäure zur Neutralisierung.

Läfst sich nun beweisen, dafs der im Äther unlösliche, aber in Wasser lösliche Körper, der etwa ein Viertel der Acidität des Weifsbrotes und ein Siebentel der des Graubrotes bedingt und etwa 0,7 bis 2,0 ccm Normallauge entspricht, Monophosphat ist?

Vor allem wird sich fragen, was wird bei den verschiedenen Extraktionen aus der Phosphorsäure?

In den Ätherauszug geht so gut wie gar keine Phosphorsäure über. Ich habe einige Male die wässerigen Tropfen, die sich in den ersten Ätherextraktionen am Boden des Kölbchens finden, auf Phosphorsäure untersucht — und nie mehr wie 1—3 mg darin gefunden, der Äther selbst war immer phosphorsäurefrei. Enthielte das Brot nun die Phosphorsäure ganz als Mono- und Dikaliumphosphat, was die einfachste Annahme ist, so müfste alle Phosphorsäure in den Wasserauszug übergehen.

Davon ist aber, wie der Versuch ergibt, gar keine Rede. Ich habe einmal an dem mit Äther erschöpften Brotrückstand bestimmt, wieviel Phosphorsäure sich demselben mit Wasser entnehmen läfst und wieviel zurückbleibt, in einer gröfseren Anzahl von Versuchen aber direkt die Löslichkeit der Phosphorsäure im frischen Brot durch Auslaugen mit Wasser bestimmt. Da die Phosphorsäure in Äther unlöslich ist, so teile ich die Resultate in der gleichen Tabelle mit.

Tabelle II.

Es enthalten 100 g frisches (in einer Anzahl der Analysen zuerst mit Äther extrahiertes) Brot an Phosphorsäure.

		Gesamt	Unlöslich in Wasser	Löslich in Wasser
Weifsbrot	III.	180,5	39	141
	IV.	177	39	138
	II.	190	—	—
	V.	134	61	73
Graubrot	V.	243,8	67,2	176
	VI.	226	43,6 [1])	182,4
	IV.	215	44	171
	VII.	273	80,6	192,4
Sauerbrot, d. h. Graubrot von verlängerter Gärdauer	I.	317	91 [2])	226
	IV.	250	44,6	205,4
	V.	173	74	100
	V.	116	61,5	55
	A.	242	67	173
Pumpernickel	I	366	—	—

Es schwankt demnach der Phosphorsäuregehalt (P_2O_5) in 100 g frischen Brotes in ziemlich weiten Grenzen von 116 bis 317 mg, weitaus am häufigsten wurden aber Werte von 180 bis 250 mg beobachtet, das kleiereichere Graubrot enthält meist

1) Mit Alkohol extrahiert 46.

2) Mit Alkohol extrahiert 65,2.

mehr als das Weifsbrot. Von der Gesamtphosphorsäure bleibt 39—74 mg im Brot zurück, nur einmal sind 81, einmal 91 mg beobachtet, wenn man es mit Wasser erschöpft[1]) — diese Phosphorsäure dürfte in komplizierterer Bindung vorhanden sein, und ihre Bedeutung für die Brotacidität entzieht sich der Beurteilung (Nuclein?).

Betrachten wir nun einstweilen die wasserlösliche Phosphorsäure als saures Phosphat, so tritt die Frage auf, ob die 55 bis 205 mg P_2O_5 genügen, um als Monophosphat die von mir auf Phosphate bezogene Acidität zu erklären.

1 Molekül P_2O_5 liefert 2 Moleküle PO_4KH_2 und diese brauchen 2 Moleküle KOH, um 2 Moleküle PO_4K_2H zu bilden, d. h. 142 mg P_2O_5 sind als saures Phosphat durch 2 cbcm Normalkali eben in eine mit Phenolphthalein alkalisch reagierende Verbindung übergeführt. Es genügt also ein Gehalt an 71 mg P_2O_5, um 1 ccm Normalalkali zu binden und die 55—205 mg P_2O_5 würden als Monokaliumphosphat 0,8—3,2 cbcm Normalalkali binden resp. Normalsäure vorstellen, d. h. genau die Menge, die titrimetrisch in den mit Äther erschöpften Brotproben gefunden ist (vergl. S. 222 oben).

Es stimmt also alles Gefundene vortrefflich auf die Annahme, dafs die Phosphate die Ursache der sauren Reaktion des Wasserauszuges aus mit Äther erschöpftem Brote sind.

Ich habe nun in meiner mehrfach citierten Arbeit (a. a. O.) auf die Eigenschaft der Phosphate hingewiesen, nur mit Phenolphthalein als Indikator scharf titrierbar zu sein, aber nicht mit Lackmus. Und ich erklärte die höheren Zahlen, die die Titration von Brotbrei mit Phenolphthalein als Indikator gegenüber Lackmus als Indikator liefert, ebenfalls gerade durch die Anwesenheit der sauren Phosphate.

War diese Erklärung richtig, so war zu erwarten, dafs auch die mit Äther extrahierten Brotrückstände nach Anrühren mit Wasser mit Lackmus und Phenolphthalein verschiedene Zahlen geben.

---

1) Eine sehr ähnliche Verteilung der löslichen Phosphorsäure auf Extrakt und Rückstand fand ich in den wenigen Versuchen, in denen ich mit 96 proz. Alkohol statt mit Wasser extrahierte.

Dies war denn auch faktisch der Fall. Differenzen von 0,6—1,2 N. S. pro 100 g Brot zwischen der Phenolphthalein- und Lackmuszahl waren stets zu finden.

Dafs ich früher bei Titrierung von Brotproben zum Teil (in etwa 10%) gröfsere Differenzen, bis 3 ccm pro 100 g, zwischen der Lackmus- und Phenolphthaleinzahl gefunden, erklärt sich offenbar durch nicht ganz gleichmäfsiges Arbeiten. Bei den nun untersuchten Brotproben sind mir Differenzen über 0,6—1,2, beim Titrieren mit Lackmus und Phenolphthalein kaum mehr vorgekommen. Man mufs nur als Lackmuszahl erst diejenige annehmen, bei der eine bleibende schwache Blaufärbung des Lackmuspapiers eintritt und als Rosolsäurezahl diejenige anerkennen, bei der eben eine schwache bleibende Rosafarbe auftritt.

Ich fasse diesen Abschnitt in den Satz zusammen: Der in Äther unlösliche Anteil der Brotacidität ist zum gröfsten Teil in Wasser löslich. Da der wasserlösliche Anteil soviel Phosphorsäure enthält, dafs die Acidität durch die Annahme, sie werde durch Kaliummonophosphat bedingt, vollkommen erklärt werden kann und zudem der Wasserauszug gegen Lackmus und Phenolphthalein einen verschiedenen Titer zeigt, so ist meine früher gemachte Annahme, dafs saure Phosphate bei der Brotacidität mitspielen, so gut als füreinmal möglich bewiesen. Die sehr geringe Acidität des mit Äther und Wasser erschöpften Brotrückstandes mag einstweilen auf die Eiweifskörper bezogen werden.

4. Was lehrt die Extraktion mit Wasser und Alkohol über die Brotsäuren?

War es mir in meiner ersten Arbeit schon gelungen, mit Wasser 80, 93 und 93,4% der Gesamtsäure zu extrahieren, so hatte eine solch vollständige Extraktion mit Hilfe des oben beschriebenen modifizierten Soxhletschen Apparates (S. 222) vollends keine Schwierigkeit.

Dagegen überzeugte ich mich mehrfach, dafs auch fünfmaliges Übergiefsen und Auspressen mit Wasser die Brotsäure nicht annähernd so vollständig extrahiert wie die Tropfmethode. Ich fand so für Sauerbrote 25 % unlösliche Säure.

Tabelle III.

Die Resultate mit der Tropfmethode waren:

	Gesamt-acidität	Kubikcentimeter Normalsäure		Prozent	
		Wasser-löslich	Wasser-unlöslich	Wasser-löslich	Wasser-unlöslich
Weifsbrot IV . .	2,3	2,0	0,32	86	14
» III . .	6,1	4,8	1,3	79	21
Graubrot V . . .	7,8	7,0	0,84	89	11
» VII . .	9,0	7,8	1,2	87	13
Sauerbrot Va . .	—	—	—	95	5
» V . . .	14,3	13,5	0,8	94	6

Löslich sind die Essigsäure, Milchsäure und die sauren Phosphate, die Acidität des in Wasser unlöslichen Rückstandes mufs bedingt sein durch die höhere ölige Fettsäure und die geringe Acidität der »Eiweifskörper«. Näher habe ich das nicht untersucht, aber die absoluten Werte, die oben mitgeteilt sind, für die Acidität der Fettsäure und »des Eiweifses« stimmt in der Menge ganz gut. Es stimmt weiter damit vortrefflich, dafs die absolute Menge der wasserunlöslichen Acidität bei allen Brotsorten ungefähr gleich hoch ist und meist um 0,8—1,3 Normalsäure schwankt, daraus folgt, dafs die sauersten Brote nur wenige Prozente wasserunlösliche Säure enthalten.

Zwei Beispiele mögen das Gesagte etwas ausführlicher illustrieren:

1. **Weifsbrot IV.** Gesamtacidität (Phenolphthalein) 2,3 ccm Normalsäure pro 100. Aus 100 g Brot sind nicht extrahierbar mit Wasser 0,32 ccm Normalsäure, d. h. 14 %.

Die Acidität der höheren Fettsäuren wurde bestimmt zu 0,3 }
Die »Acidität der Eiweifskörper« . . . . 0,2 } Summe 0,5.
Es erklärt sich also die in Wasser unlösliche Acidität sehr gut.

2. Graubrot. Gesamtacidität 7,8. (Phenolphthalein.) Aus 100 g Brot sind nicht extrahierbar mit Wasser 0,7 ccm Normalsäure pro 100 g.
Die Acidität der höheren Fettsäuren wurde bestimmt zu 0,8 }
Die »Acidität der Eiweifskörper« zu . . . . . . 0,16 } Summe 0,96,
was wieder recht befriedigend stimmt, wenn man blofs eine geringe Fettzerlegung bei der Destillation annimmt.

Einige Versuche, die Brotsäuren mit Alkohol zu extrahieren, ergaben ganz ähnliche Ergebnisse wie die Wasserextraktionen. Nur mufs man sich hüten, die alkoholischen Auszüge direkt mit Phenolphthalein als Indikator zu titrieren. Erst nach Zusatz erheblicher Wassermengen (ca. 100%) tritt die Phenolphthaleinreaktion prompt und rechtzeitig auf.

5. Die Veränderung des Säuregehalts beim Aufbewahren des Brotes.

Ich habe a. a. O. S. 366 ausgesprochen, dafs ich mich nie von der Richtigkeit der Angaben Nefslers überzeugen konnte, dafs die Acidität eines Brotes beim Aufbewahren zunimmt. Ich kann jetzt angeben. dafs eine ziemlich grofse Reihe von besonderen Versuchen mir jetzt sicher gezeigt hat, dafs die Acidität von in Glasgefäfsen bedeckt aufbewahrtem Brot nie zunimmt, sondern gleichbleibt, dafs dagegen, wie zu erwarten, bei Zimmertemperatur, rascher bei höherer Temperatur offen aufbewahrtes Brot einen Teil seiner Säure verliert. Folgende Beispiele beweisen dies. Alle Titrierungen beziehen sich auf Phenolphthalein als Indikator.

Tabelle IV.

Brot bedeckt, kühl aufbewahrt.

	Titer frisch für 100 g	Dauer des Aufbewahrens	Titer nach dem Aufbewahren
Graubrot . . .	8,8—9,0	5 Tage	9,2
Graubrot . . .	18,5	4 Wochen	18,6
Sauerbrot . .	21,3—21,7	5 Tage	21,6

Tabelle V.

Brot unbedeckt, bei 40—50° aufbewahrt.

	Titer frisch für 100 g	Dauer des Aufbewahrens	Titer nach dem Aufbewahren
Graubrot . . .	21,3—21,7	5 Tage	20,4

Bewahrt man allerdings nur kürzere Zeit im Trockenschrank bei 100° Proben auf, so kann die Abnahme pro 100 g manchmal eine bescheidene sein.

Tabelle VI.

Brot unbedeckt, 4 Stunden im Trockenschrank bei 100°.

	Titer frisch für 100 g	Dauer des Aufbewahrens 4 Stunden	Titer nach dem Aufbewahren
Graubrot . . .	17,8	4 Stunden	17,2—17,6
Graubrot . . .	16,0		15,2
Graubrot . . .	8,0		7,6

Es ist also nirgends eine über die Versuchsfehler hinausgehende Zunahme der Acidität eingetreten, eine Abnahme nur, wenn nicht kühl und bedeckt aufbewahrt wurde.

6. Wie sollen wir für die Praxis die Brotacidität bestimmen?

Ich glaube durch alle vorliegenden Mitteilungen bewiesen zu haben, dafs die von mir vorgeschlagene Methode der Titrierung des fein zerriebenen Brotbreis mit Natronlauge unter Zusatz von reichlichen Mengen Phenolphthalein als durchaus zweckmäfsig bezeichnet werden mufs. Sie lehrt scharf den Moment kennen, in dem alle freie Säure gesättigt und die sauren Phosphate in neutrale verwandelt sind. Durch Alkalibindung der Eiweifskörper wird die Methode nur minimal beeinflufst — wenigstens in den von mir genauer untersuchten Fällen[1]). — Es geben also die

1) 70—88 % der Säure ist freie ätherlösliche Essig- und Milchsäure, 20—25 % ist in Äther unlöslich aber in Wasser löslich und hat einen Phosphorsäuregehalt, dafs sie unbedenklich als saures Phosphat aufgefafst werden kann. Nur ein verschwindend kleiner Rest der Säure scheint durch andere Dinge (Eiweifskörper?) bedingt.

Phenolphthaleinzahlen (mit einigen oben erwähnten Ausnahmen meiner Brottabelle einen guten und richtigen Überblick über den Säuregehalt des deutschen Brotes.

In anderer Weise sind gelegentlich Menicanti und Prausnitz[1]) verfahren: Eine Scheibe Brot, 150 bis 250 g, wurde gewogen, in feine Stücke zerschnitten, in einer Schale mit der fünf- bis sechsfachen Menge kalten Wassers angesetzt. Nachdem das Brot aufgequollen war, wurde es noch mit einem dicken Pistill vollständig zerquetscht, das Ganze in einem 2 l-Mefskolben übergeführt und auf 2 l aufgefüllt. Von der gründlich durchgemischten Menge wurden nach einiger Zeit 250 ccm abfiltriert, zu welchen dann 25 ccm $^1/_4$-Normalnatronlauge und 10 ccm $BaCl_2$-Lösung hinzugesetzt wurden. Die Phosphate fielen jetzt als phosphorsaurer Baryt $(PO)_4Ba_3$ aus, von der überstehenden Flüssigkeit wurden zweimal je 50 oder 100 ccm abfiltriert und in den Filtraten der Grad der Alkalescenz durch $^1/_4$-Normalsalzsäure mittels der Tüpfelmethode bestimmt.

Meine Versuche nach der Methode von Menicanti und Prausnitz habe ich mit einigen kleinen Modifikationen der Originalvorschrift so angestellt: 50 g Brotkrume wurden in einem Literkolben mit ca. 500 ccm kochend heifsen Wassers übergossen, die Masse unter häufigem, sehr gründlichem Umschütteln ca. vier Stunden, gut mit Kork verschlossen, stehen gelassen, dann auf 1 l aufgefüllt und nach abermaligem tüchtigen Umschütteln wieder sedimentieren lassen. Von der fast klaren Flüssigkeit wurden 200 ccm rasch durch ein Filter gegossen 5—20 ccm Normallauge und 45—30 ccm 10proz. Chlorbaryumlösung zugesetzt; in einem Stöpselcylinder schied sich »das Baryumphosphat« bald als dickes Sediment aus. Ein aliquoter Teil der klar über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit wurde titriert, ebenso ein Rest der Flüssigkeit mit dem Niederschlag. Zur Kontrolle bestimmte ich stets: In einem aliquoten Teil des klaren Wasserauszugs im Literkolben und im gemessenen Sediment des Literkolbens mit Phenolphthalein direkt den Säuregehalt. Aufserdem titrierte ich eine zweite Brotprobe, mit heifsem

1) Zeitschr. f. Biolog., Bd. XXX, 328.

Wasser in der Reibschale zu Brei zerrieben, direkt mit Phenolphthalein nach der von mir sonst immer angewendeten Methode.

Graubrot II.

1. Direkte Bestimmung. 100 g verbrauchen als Brei 6,8 ccm mit Lackmus, 7,4 mit Phenolphthalein.

2. Nach Prausnitz 50 g Brot mit heifsem Wasser zerrührt, auf 1 l gebracht, oft geschüttelt, dann 4 Stunden absitzen lassen. Hiervon 200 ccm abgehebert, 40 ccm $BaCl_2$-Lösung und 10 ccm Normalnatronlauge zugesetzt. Zu 100 ccm der klaren Flüssigkeit braucht man 3,15 N. S. bis zur blassen Rosafärbung. Also entsprechen den 200 ccm $2,5 \cdot 3,15 = 7,9$ NS; sie enthielten also $10-7,9 = 2,1$ Normalsäure. In 50 Brot also $5 \cdot 2,1 = 10,5$ Normalsäure oder in 100 Brot = 21 Normalsäure!

3. Direkte Titrierung des (nach 2) hergestellten Brotbreis. 700 Flüssigkeit brauchen für 100 0,3 NL zur deutlichen Phenolphthalein-Reaktion, also 700 $7 \cdot 0,3 = 2,1$

300 Sediment total 1,5 . . . . $\frac{1,5}{3,6} \cdot 2 = 7,2$ ccm NS für 100 Brot.

Graubrot VII.

1. Direkte Bestimmung. 100 g = 9 ccm NL mit Phenolphthalein.

2. Nach Prausnitz 50 g auf 1 l. Davon 200 abfiltriert und 10 Normalnatronlauge und 40 Chlorbaryumlösung. Von den 250 ccm verbrauchen 50 7,9 ccm $^1/_5$ Normalsäure. Also enthielten 100 Brot $= 2 \cdot 5 \left(10-5 \cdot \frac{7,9}{5}\right)$ NS = 21 NS.

Sauerbrot II.

1. Direkte Bestimmung. 100 g verbrauchen 9,4 mit Lackmus, 10,2 mit Phenolphthalein.

2. Säurebestimmung nach Prausnitz. 50 g Brot werden mit heifsem Wasser zerrührt, auf 1 l gebracht, gut umgeschüttelt. dann klar absitzen lassen. Hiervon 200 ccm und 40 ccm $BaCl_2$ und 10 ccm NaOH. Klar absitzen lassen. Für 100 ccm der klaren Flüssigkeit braucht man 3,2, 3,15[1]), 3,10[1]) in 3 besonderen Versuchen bis zur Blafsrosafärbung des Phenolphthaleins. Also entsprechen den 200 ccm Auszug $3,15 \cdot 2,5 = 7,9$, sie enthalten also $10-7,9 = 2,1$ Normalsäure. In 50 Brot also $5 \cdot 2,1 = 10,5$ Normalsäure oder in 100 Brot = 21 Normalsäure.

3. Direkte Titrierung des (nach 2) auf 1 l gebrachten Brotbreis nach meiner Methode ergab:

100 Brühe = 0,38 Lackmus deutlich, Phenolphthalein Spur, also
in 750 Brühe = 2,85
in 250 Sediment = 1,9
4,75 also in 100 9,5.

---

1) Die Titrierungen wurden einmal nach $^1/_4$ stündigem, einmal nach 12 stündigem Absitzen gemacht.

Die mitgeteilten Versuche genügen, um darzuthun, dafs man ganz verschiedene, aufserordentlich viel höhere Resultate nach der Methode von Menicanti und Prausnitz als nach meiner eigenen erhält.

Die Prausnitzsche Methode müfste eigentlich weniger Säure als mein Verfahren finden, weil es auf die Bestimmung der im Brotbrei zurückbleibenden wasserunlöslichen oder noch nicht vom Wasser gelösten Säure verzichtet. Es macht dies nach den oben mitgeteilten Beispielen bei der unvollständigen Extraktion bis zu 25% aus. Ich glaube, dafs die ausführlichen Erörterungen oben (S. 226) gezeigt haben, dafs von diesem Rest höchstens ein kleiner Teil nicht auf Säure oder saure Salze bezogen werden darf, sondern etwa auf Eiweifskörper zu beziehen ist. Diese Acidität des Rückstandes darf also nicht vernachlässigt werden.

Trotz dieser Vernachlässigung findet man nach Prausnitz doch sehr wesentlich höhere Zahlen als nach meiner direkten Methode. Dies könne einmal davon abhängen, dafs Prausnitz nicht die Alkalimenge ermittelt, welche die sauren Phosphate nötig haben, um in neutrale überzugehen, sondern dafs er die Titrierung unter Bedingungen ausführt, bei denen die Phosphate in basische Salze verwandelt werden.

Es mufs jedes Molekül H_2KPO_4 nach Prausnitz genau doppelt so stark wirken als nach meiner Methode, was folgende Versuche beweisen:

Es wurde eine Lösung von KH_2PO_4 gemacht, welche in 10 ccm 163,2 mg H_2KPO_4 enthielt.

Davon wurden 10 ccm mit Normalnatronlauge direkt titriert und 1,2 verbraucht, bis zur schwachen Phenolphthaleinreaktion wie erwartet $(1{,}2 \cdot 136 = 163{,}2)$. Jetzt wurde Chlorbaryum zugesetzt, die alkalische Reaktion verschwand, und es mufste noch 1,1, in Summa also 2,3 Natronlauge zugesetzt werden, bis sie wiederkehrte.

Zu einer zweiten Probe von 10 ccm wurde Chlorbaryum gesetzt und nun $^1/_{20}$ Normalbaryumhydroxydlösung zugesetzt bis zur Alkalescenz gegen Phenolphthalein, es wurden 45 $^1/_{20}$ Normalbaryum = 2,3 Normalnatronlauge verbraucht.

Es reagiert PO_4BaH im Gegensatz zu PO_4K_2H sauer gegen Phenolphthalein, erst $(PO_4)_2Ba_3$ reagiert alkalisch.

Da aber der Auszug aus 50 g Brot in 1 l höchstens 160 mg Phosphorsäure enthält und bei den Analysen nur $^1/_5$ davon Verwendung findet, so ist der Phosphorsäuregehalt viel zu klein, um die grofse Differenz der Analysen nach meiner und Prausnitz's Methode zu erklären.

Einen zweiten Grund für zu hohe Säurezahlen nach Prausnitz könnte ein Gehalt an Karbonat in der Normallauge abgeben, das Karbonat fällt als Baryumkarbonat aus und die Alkalinität der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit ist vermindert. Diese Fehlerquelle läfst sich natürlich durch Verwendung von karbonatfreier Lauge vermeiden, liegt nicht der Methode als solcher zur Last und hat wohl bei Prausnitz's Bestimmungen so wenig wie in meinen eigenen eine Rolle gespielt.

Die wirkliche Erklärung der hohen Säurezahlen nach Prausnitz liegt auf einem anderen Gebiete. Versetzt man Brotauszug mit überschüssiger Natronlauge und Chlorbaryum, so fällt wohl Baryumphosphat, aber der massige Niederschlag, der namentlich bei starkem Alkaliüberschufs entsteht, enthält daneben erhebliche Mengen eines an Baryt gebundenen Eiweifskörpers. Man kann diesen Eiweifskörper auch durch überschüssige Baryumhydroxydlösung fällen. Die Menge des alkalibindenden Niederschlags und damit die Menge des gebundenen Alkalis ist von der Menge des zugesetzten Alkalis in gewissen Grenzen abhängig. Während Baryumphosphatniederschläge nur gleich nach ihrem Entstehen flockig sind, aber rasch krystallinisch werden und sich auf ein kleines Volum zusammenziehen, bleibt der Brotauszugniederschlag wie ein echter Eiweifsniederschlag flockig, wenn er sich auch zusammenballt und zusammensetzt. Ich gebe dafür folgende Beispiele:

Es wird ein Würzburger Graubrot

1. direkt titriert 100 g = 6,8 N L.
2. Es werden zweimal 50 g Brot mit 1 l Wasser im Stöpselcylinder durchschüttelt und klar absitzen lassen.

Es wird 1500 ccm klare Flüssigkeit durch ein Filter abgegossen. 100 ccm davon = 0,32 N L.

Aufserdem wird erhalten 250 g breiiger Rückstand gleich je 1,2 N L.
Es enthält also die Flüssigkeit 15 · 0,32 = 4,8
der Rückstand 2,4
Also indirekt titriert 100 g = 7,2 N L.

Eine befriedigende Übereinstimmung mit 6,8, wenn man die Multiplikation der Fehler bedenkt.

3. Es werden 4 mal je 200 ccm Filtrat von 2 mit wechselnden Mengen N L und Chlorbaryumlösung versetzt.

	A	B	C	D
Brotauszug	200	200	200	200
Normallauge . . .	20	20	10	5
Chlorbaryum . . .	30	30	40	45
Total	250	250	250	250

Es entstehen abnehmende Mengen von Niederschlägen.

Bei A und B ca. 34 ccm Niederschlag. Flüssigkeit klar.
C ca. 15 ccm » » »
D eine diffuse Trübung, wenig Niederschlag.

Es werden titriert je 50 ccm der obenstehenden Flüssigkeit mit $^1/_5$ N L und mit Vernachlässigung des Niederschlags daraus berechnet für die 250 ccm Glasinhalt

16,7 16,7 7,6 3,6 N S.

Also scheinbare Acidität von 200 ccm Brotauszug

3,3 3,3 2,4 1,4 N S.

oder für 2000 Auszug aus 100 g Brot

33 33 24 14 N L

anstatt 6,8.

Der Niederschlag von A und C wurde, um die Alkalibindung durch die Niederschläge zu erforschen, mit der Saugpumpe abfiltriert und beim Titrieren mit N S gefunden:

A Gesamtfiltrat 16,0 N S
Niederschlag 1,8 (derselbe war bis auf 1,25 g abgesogen)
Summa 17,8.

Also scheinbare Acidität von 200 Brotauszug 2,2
von 100 g Brot 22,0.

C. Gesamtfiltrat 7,6 N S
Niederschlag 0,9 (bis auf 2 g abgesaugt).
8,4.

Also scheinbare Acidität von 200 Brotauszug 1,6
von 100 g Brot 16,0.

Berücksichtigt man also auch die durch den Niederschlag gebundenen Alkalimengen, so findet man zwar richtigere, doch immer noch zu hohe Resultate, und zwar sind sie um so mehr zu hoch, je mehr Alkali verwendet ist.

Ich bin nun auf folgende Vermutung gekommen: Der Niederschlag könnte dem Salze einer zweibasischen Säure entsprechen — nennen wir ihn einmal Dibaryumalbuminat. Dieses Salz reagiert schon sauer gegen Phenolphthalein, sowie der erste Tropfen Säure mehr zugesetzt ist als zur Umwandlung von Dibaryumalbuminat in Monobaryumalbuminat nötig ist. Verdoppelt man die bei der Titrierung des Niederschlags verbrauchte Säuremenge, so hat man erst die Alkalimenge, welche das Eiweiſs vortäuscht resp. in der That bindet.

Die Probe auf diese Hypothese ist folgende Rechnung:

A. $16{,}0 + 1{,}8 + 1{,}8 = 19{,}6$
$20 - 19{,}6 = 0{,}4.$
Acidität für 100 g Brot = 4,0.

C. $7{,}6 + 0{,}9 + 0{,}9 = 9{,}3$
$20 - 9{,}3 = 0{,}7.$
Acidität für 100 g Brot = 7,0.

Das Beispiel C stimmt so befriedigend als möglich, 7 statt 6,8. Das Beispiel A würde sofort stimmen, wenn man für 1,8 setzen dürfte 1,7. Da auf saure Reaktion titriert ist, so kann sehr leicht 1,8 um 0,1 zu hoch sein. Setzt man 1,7 in die Rechnung, so ergibt sich als Acidität 6,0, auch ein befriedigendes Resultat.

Eine Stickstoffbestimmung in den Barytniederschlägen und im Filtrat ergibt folgendes Resultat:

200 ccm Brotauszug	= 24 mg	Stickstoff	= 150 Eiweiſs.
Im Barytniederschlag	= 8 »	»	= 50 »
Im Filtrat	= 16 »	»	= 100 »

Es wird also durch die Anwendung von Alkali und Baryumchlorid im Überschuſs eine erhebliche Menge 1/3 des Eiweiſses gefällt und dabei eine Säuremenge vorgetäuscht, welche das Doppelte, Vierfache, ja Siebenfache der wirklichen präexistierenden Acidität betragen kann.

Viele Beispiele hier anzuführen, unterlasse ich, nur ein einziges möge noch kurz hingesetzt sein, welches die obige Hypothese auch zu bestätigen scheint.

Würzburger schwarzes Roggenbrot.

Acidität direkt im Brotbrei = 11,6 N L für 100 Brot.

Acidität bestimmt durch Zerschütteln von 2 mal je 50 g Brot mit je 1 l Wasser.

Acidität des Auszugs (1500 ccm) = 15 · 0,43 = 6,45
Acidität des Rückstandes (500 ccm) . . = 5,0
11,45 für 100 Brot.

Es werden nun 2 mal 200 ccm des klaren Auszugs mit Natronlauge und Chlorbaryum versetzt.

A. 200 Auszug + 20 N L + 30 ccm (10 %) Chlorbaryum = 250
B. 200 + 10 + 40 = 250.

A. mit der Saugpumpe filtriert, gibt im Filtrat 16,45
Im Niederschlag 1,4
Niederschlag doppelt gerechnet 1,4
Wirkliche Acidität 0,86
20,10.

B. mit der Saugpumpe filtriert, gibt im Filtrat 8,2
Im Niederschlag 0,7
Niederschlag doppelt gerechnet 0,7
Wirkliche Acidität 0,86
10,46.

Das erste Beispiel A stimmt vorzüglich zur Hypothese, bei dem zweiten Beispiel B ist die Übereinstimmung etwas weniger gut, doch braucht dies bei der geringen Gröfse der wirklichen Acidität nicht zu verwundern.

Natürlich habe ich versucht, auch mit reinen Eiweifskörpern darzuthun, dafs man alkalibindende Niederschläge erhält, wenn man sie mit überschüssiger Natronlauge und Chlorbaryum versetzt, ich habe dabei mit frischem und käuflichem, trockenem Eiweifs meist positive Resultate gehabt. Einen solchen Versuch, bei dem ein käufliches Albuminpulver angewendet wurde, setze ich her:

Angewendet 1 g Albumin. 2 ccm Normalnatronlauge, 10 ccm Chlorbaryum, 138 Wasser.

Es enthalten 50 ccm Filtrat 0,5 N L
100 ccm Rückstand 1,25.

Also bindet der Niederschlag 1,25 — 2 · 0,5 = 0,25.

Rechnet man die Alkalinität des Niederschlags doppelt, so findet man 3 · 0,5 + 2 · 0,25 = 2,0.

1 g Albumin. 5 ccm Normalnatronlauge, 10 ccm Chlorbaryum, 135 Wasser.

Es enthalten 50 ccm Filtrat 1,4 N L
100 ccm Rückstand 3,2,

Also bindet der Niederschlag 3,2 — 2 · 1,4 = 0,4.

Rechnet man die Alkalinität des Niederschlags doppelt, so findet man 3 · 1,4 + 2 · 0,4 = 5,0.

1 g Albumin. 10 ccm Normalnatronlauge, 10 ccm Chlorbaryum, 130 Wasser.

Es enthalten 50 ccm Filtrat 3,0 N L
100 ccm Rückstand 6,5
Also bindet der Niederschlag 6,5 — 2 . 3.0 = 0,5.
Rechnet man die Alkalinität des Niederschlags doppelt, so findet man 3 . 3,0 + 2 . 0,5 = 10,0.

Alle diese Erfahrungen passen trefflich zur oben ausgeführten Annahme, die ich aber nur als noch nicht bewiesene Vermutung angesehen wissen will, und gegen die ich mir gewisse Einwände nicht verhehle.

Verwendete ich gröfsere Albuminmengen (4 g), so bekam ich bei dem Albuminpulver A sehr kräftige Niederschläge und sogar gröfsere Alkaliverluste als der doppelten Säurezahl des Niederschlags entsprach; mit einem neuen käuflichen Albuminpräparat dagegen waren die Niederschläge und der Alkaliverlust sehr unbedeutend. Ich hoffe Zeit zu finden, später diesen Problemen, die mit meinem diesmaligen Thema nur in losem Zusammenhang stehen, näher nachzugehen.

Das ist jedenfalls bewiesen, dafs die Barytmethode, selbst wenn man, wie Prausnitz und Menicanti thaten, keine sehr grofsen Natronlaugemengen verwendet, zu hohe Resultate gibt, während meine einfache Vorschrift zur Säurebestimmung den Anforderungen der Praxis durchaus entspricht.

Die Malaria in Italien im Jahre 1901.

Epidemiologische und prophylaktische Forschungen

von

A. Celli.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Rom.)

Die italienische Gesellschaft zur Malariaforschung hat die epidemiologischen und prophylaktischen Forschungen immer mehr über Italien ausgedehnt. Zu den von mir 1900 gegründeten und beaufsichtigten Untersuchungsstationen in Lecce, Foggia, Ferrara, Mantua, Cremona und Mailand kamen 1901 andere in Sondrio, Padua, Marano Lagunare und Carlino (Udine), Bagnolo di Lonigo (Vicenza), Grezzano und Vigasio (Verona), Pisa und den benachbarten Landstrichen Toskanas, Ravenna, und in Süditalien in Marcianise (Caserta), in Apulien, im Melfesischen (Basilikata), in Calabrien, in Sassari und endlich in Pachino, Provinz Syrakus, hinzu.

Vom äufsersten Norden Italiens, dem Veltlin, bis zum äufsersten Süden, Sicilien, wurden also und sind noch alle Orte, wo das Malariastudium am notwendigsten war und aus lokalen Gründen am interessantesten durch ein enges Netz von Untersuchungsstationen verbunden, die alle eine Richtung haben, aber deren einzelne Leiter volle Forschungsfreiheit haben.

Im Venezianischen haben Prof. Ficalbi und Serafini, in Süditalien Dr. Martirano die Forschungen beaufsichtigt und geleitet. Auch in Holland hat Dr. Schoo eine interessante Untersuchung über Malaria gemacht.

Ich will hier einen ganz kurzen Auszug der Resultate geben, die wir in der vorigen Malariazeit erhalten haben in Beziehung zu meinen früheren epidemiologischen [1]) und prophylaktischen [2]) Beobachtungen.

I. Teil.

Malariaepidemiologie.

Das Epidemiejahr 1901 war im allgemeinen milder als das Vorjahr.

Interessant ist immerhin, dafs hie und da Ausnahmen nicht fehlten, wie z. B. im Venezianischen (Treporti, Vancimiglio, Mezzana und Umgebung), in Trecate zwischen Mailand und Novara, in Mantua, im Süden Grossetos, in Foggia, in Brindisi, in Cetraro (Cosenza). Auch in der römischen Campagna hatten wir vereinzelt schwere Malariaherde, wie z. B. in Pantano Borghese.

Die Ursache dieser epidemiologischen Ausnahmen zu erklären, ist heutzutage noch ebenso schwer als den Grund zu finden, woher die Epidemie 1901 im allgemeinen viel leichter auftrat als im vergangenen.

Wir können höchstens eine von einem Jahr schwerer Malaria herrührende Immunität der Bevölkerung annehmen.

A. Geographische Verteilung der Malariaparasiten.

1901 ist definitiv bewiesen worden, dafs die Parasiten der Astiv-Autumnalfieber über ganz Mittel- und Oberitalien verbreitet sind. Da aber bei der allgemeinen vorherrschenden leichten Epidemie die Zahl der Ästiv-Autumnalfälle im Verhältnisse zu den leichten Tertianafällen geringer war, konnte ich die epidemischen Unterschiede der Malaria Nord- und Süditaliens genauer feststellen.

Als Ausgangspunkt nehme ich den + 15. Breitengrad an, der an der Grenze Toskanas am abruzzesischen Appenin entlang bis Ancona sich hinzieht und die Halbinsel so in zwei Teile teilt. Im allgemeinen ist die Malaria nördlich des Breitengrades

1) u. 2) Archiv f. Hygiene, Bd. XL, 1901.

leichter als südlicher. Wir können also mit meinem Freund Fortunato von zwei malarischen Italien sprechen: eins besteht aus Nord- und einem Teil Mittelitalien, eins aus Süditalien, nebst den Inseln, den Maremmen Toskanas und Roms.

In der Mitte ist eine Zwischenzone mit leichten Abstufungen. Die beiden Extreme waren dieses Jahr die leichteste Malaria in Gazzuolo (Mantua), die schwerste in Pachino (Syrakus).

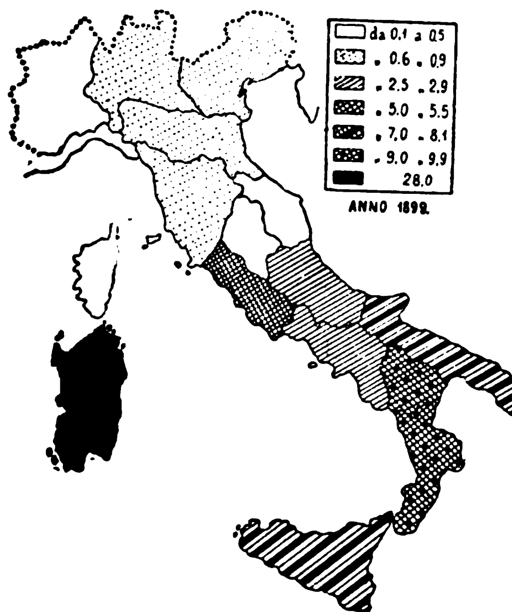


Fig. 1.

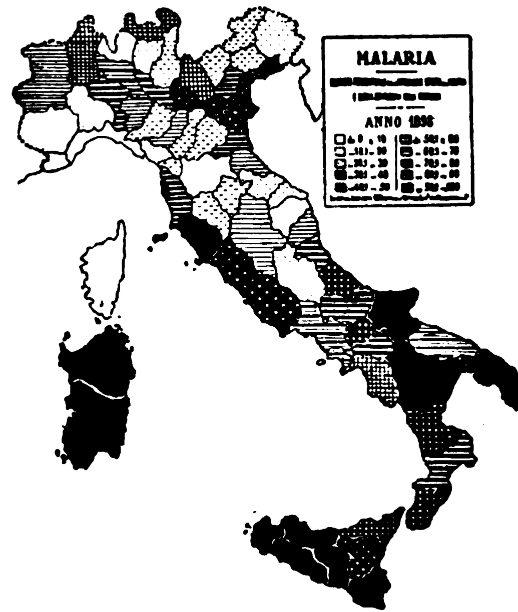


Fig. 2.

Welches sind also die charakteristischsten epidemiologischen Merkmale zwischen leichter und schwerer Malaria? Wenn man die Mortalitätskarte (Fig. 1) mit der Morbiditätskarte (Fig. 2) an Malaria vergleicht, die zwei Jahre hintereinander, 1898 und 1899, vom Reichsgesundheitsamt veröffentlicht worden sind[1]), sieht man auf den ersten Blick, dafs die Sterblichkeitsziffer im Verhältnisse in Süditalien weit höher ist, während die Anzahl der Malariaerkrankungen in einigen Teilen Norditaliens (Pothal) so erheblich ist wie in wenigen Provinzen

1) Die Sterblichkeitskarte ist im Verhältnis von 1 : 10000 der Bevölkerung gerechnet. Die Krankheitskarte im Verhältnis von 100 an Malaria Erkrankten zu dem Rest der Bevölkerung.

Unteritaliens. Man vergleiche z. B. in Fig. 2 die Provinzen Venedig, Rovigo, Mantua, Ferrara mit den Provinzen Rom, Lecce und Catania.

Die geringe Malaria-Sterblichkeit in Norditalien mufs man einesteils auf den reichlichen Gebrauch des Chinins schieben (was ich bereits anderswo hervorhob); anderseits steht aber fest, dafs die Parasiten des Astiv-Autumnalfiebers einen verschiedenen Grad der Virulenz besitzen, der im allgemeinen in Unteritalien stärker ist (toskanische und römische Maremmen, Süditalien, Inseln). Es gibt hier wahrscheinlich auch eine perniciöse Varietät: ein Beispiel dafür ist der traurige Fall Dr. Panichi, der sich den Finger mit einem Deckglase ritzte, das mit dem Blute eines Perniciosakranken bestrichen war. Nach fünf Tagen erkrankte er an Malaria, die sofort mit so schweren Symptomen auftrat, dafs sie nur mittels häufigen und wiederholten Chinininjektionen gehoben werden konnte. Ähnliche schwere Malariafälle bei robusten Erwachsenen, die jeder spezifischen sofortigen Kur eigensinnig widerstehen, kann man hier und in Süditalien beobachten und wurden auch in Sicilien angetroffen (Pachino).

Sie finden sich indessen sehr selten in der dem adriatischen Meer zu gelegenen Teile Mittelitaliens und in Oberitalien. Dr. Polentini hat dieses Jahr die Aufmerksamkeit auf Perniciosafälle bei Kindern gelenkt, die gleichzeitig an Magen- und Darmkatarrh erkranken, wodurch die Diagnose erschwert wird. Oft verlaufen diese Fälle letal. Im Ospedale Maggiore in Mailand kamen in einem so schweren Malariajahr wie 1900 auf 365 Malariafälle nur 3 Perniciosafälle, die noch dazu für Typhus resp. Meningitis gehalten worden waren.

Im verflossenen Jahr hatten wir in allen Untersuchungsstationen Mittel- (oberhalb Roms) und Oberitaliens nur zusammen vier Perniciosafälle zu verzeichnen.

So sind z. B. in dem Teile Italiens, wo leichte Malaria herrscht, häufig frische Astiv-Autumnalfälle zu finden, die auch ohne Chinin sich nicht verschlimmern und die erlauben, zu Fufse einige Meilen weit zu gehen, um den Arzt zu konsultieren, wenn das

Blut auch von Malariaparasiten wimmelt. Dieser »milderen Varietät« pafst sich der Organismus viel leichter an. In Oberitalien sieht man daher trotz der Reisfelder, in denen die Astiv-Autumnalparasiten vorherrschen, Bevölkerungen, die nicht durch die Malaria heruntergekommen sind, wie bei uns und in Unteritalien, wo sich durch Jahrhunderte hindurch die ungastlichen Latifundien erhalten haben. Dieses Anpassen des Organismus braucht aber seine Zeit. Daher können an einigen Orten wie in Novara, wo der Reisbau erst kürzlich begonnen hat, schwere, ja perniciöse Malariaepidemien beobachtet werden.

Aufserdem sind in Oberitalien die leichten Tertianafieber häufiger als die Ästiv-Autumnalfieber; ja einen Malariaherd haben wir gefunden, in dem fast ausschliefslich leichte Tertianafieber vorkamen. Dr. Soliani hat in der Nähe von Mantua in Gazzuolo eine Epidemie beschrieben mit 77% leichter Tertiana und nur 7% Astiv-Autumnalfällen, während gleichzeitig in der Stadt Mantua eine Epidemie herrschte mit 61% schwerem Tertiana- und 32% leichtem Tertianafieber.

Warum konnten sich die Astiv-Autumnalparasiten bei der in Entfernung von nur wenigen Kilometern in Mantua verbreiten und nicht in Gazzuolo?

In Holland haben, wie Dr. Schoo schreibt und ich selbst gesehen habe, die Ästiv-Autumnalfieber, die ehemals dort herschten, vollkommen aufgehört, während eine leichte Tertianaepidemie mit wenigen Quartanafällen noch fortfährt, sich auszubreiten.

Man kann also im allgemeinen sagen, dafs die leichten Tertianafieber für Orte und Jahre mit leichter Malaria charakteristisch sind, während die Ästiv-Autumnalfieber für Orte und Jahre mit schwerer Malaria charakteristisch sind.

Es ist bekannt, dafs bereits Marchiafava und ich die Parasiten des eigentlichen Quotidianfiebers von denen des Astiv-Autumnalfiebers unterschieden haben. Später haben Marchiafava und Bignami die der schweren Tertiana beschrieben. Koch hatte dann übertrieben, als er behauptete, dafs die Ästiv-Autumnalpara-

siten (fälschlich von ihm Tropenparasiten genannt) immer Tertianafieber hervorriefen. Dr. Cascini, der seit drei Jahren genau alle Malariafälle, die in Santo Spirito vorkamen, untersucht hat, hat 63 Fälle von eigentlichem Quotidianfieber zusammenstellen können, die von Ästiv-Autumnalparasiten herrührten. Mit dem Blute dieser parasitären Abart hat er beim Menschen dieselbe klinische Quotidianart reproduzieren können.

Es wäre also sehr interessant, in den oben genannten Fällen leichter Malaria zu beobachten, ob und wieviel klinische Quotidianarten vorhanden seien und mit welcher Art der Virulenz. Es hat sich endlich bestätigt, dafs die Quartanaparasiten am wenigsten vorkommen und am gleichmäfsigsten in ganz Italien verbreitet sind, z. B. 5,42% in Mantua, 6,6% im Melfesischen, 10,3% in Marano Lagunare, 10,4% im Leccesischen, 15,6% in der Provinz Venedig, 16% in Pachino, 19,60% in Ferrara, 20% in Trinitapoli (Foggia).

B. Verlauf der Malariarecidive.

Überall, mit Ausnahme von Pachino, bestätigt sich die bereits von mir erwähnte Thatsache, der präepidemischen Zunahme der Recidive der Quartana- und leichten Tertianafieber. Ebenfalls bestätigt sich das Fehlen der präepidemischen Zunahme der Ästiv-Autumnalrecidive bei uns (Dr. Dionisi, Maccarese, Dr. Cascini, S. Spirito) und ist wenigstens sehr zweifelhaft in Mittel- (Ferrara) und Oberitalien (Mantua, Cremona, Venedig). In Süditalien hingegen (mit Ausnahme von Pachino) wurde sie nicht nur wieder beobachtet, sondern Dr. Martirano, der sie zuerst beschrieben hat, hat dieses Jahr wahre Epidemien der Astiv-Autumnalrecidive am Anfang des zweiten Semesters des Jahres beobachten können.

Unter diesen Recidivepidemien des Ästiv-Autumnalfiebers mit einigen tödlich verlaufenen Perniciosafällen ist die Trinitapolis am bemerkenswertesten, die im Juli und August ganz plötzlich auftrat und wieder abnahm, während im benachbarten Foggia die Malaria weit schwerer auftrat und viel länger dauerte, und in

Cetraro in Kalabrien beinahe dieselben charakteristischen Merkmale hatte, d. h. plötzliches Auftreten im Juli, Maximum im August, rasche Abnahme und Aufhören anfangs September, trotzdem die lokalen prädisponierenden Ursachen der Epidemie (Temperatur etc.) fortdauerten. Es wäre also sehr interessant, diese Recidivepidemien noch näher zu studieren.

Im allgemeinen hat sich dann bestätigt, dafs ein Hauptmerkmal der Malaria die Recidive nach langen Zwischenräumen, trotz aller möglicher Kuren, sind; wenn man diese mit einem neuen Namen belegen wollte, wäre kein anderer als »Recidivfieber« passender.

Es hat sich weiter bestätigt, dafs, um die Species besser zu bewahren, die Recidive der Astiv-Autumnal- leichter Tertiana- und Quartanafieber fortdauern, wenn die neue Epidemie bereits begonnen hat. Es bleibt immerhin zu sehen, warum das Wiederauftreten der Ästiv-Autumnalrecidive nicht überall vorkommt. Sollte es in den heifsen Zonen einen, wenn auch nicht ausschliefslichen Grund geben, der das Entwickeln der schweren Malaria begünstigt?

Das Studium der Recidive kann nicht vollkommen sein, da uns ein Mittel fehlt, die latente und recidivierende Malaria zu diagnostizieren. Dabei mufs ich bemerken, dafs ich mit meinen Assistenten Casagrandi und Carducci ein eventuelles Malariahämolysin zu finden hoffte, da zu derartigem Zwecke das Agglutinationsvermögen (Lomonaco, Panichi, Panegrossi) nicht zu rechnen war.

Über die Existenz des Malariahämolysins können wir uns noch kein definitives, sondern nur ein wahrscheinliches Urteil erlauben. Das Serum des Malariablutes, das einem gesunden Menschen eingespritzt wird, verändert die Zahl der roten Blutkörperchen und den Hämoglobingehalt; es mufs deshalb eine besondere Substanz enthalten, die beim gesunden Menschen nicht vorkommt. Nur bei einigen an von Malaria herrührender Hämoglobinurie leidenden Kühen haben wir ein Hämolysin feststellen können; beim Menschen ist es uns nicht gelungen, vielleicht der Mangelhaftigkeit der Untersuchungsmethoden halber.

Wir müssen also noch fortfahren, uns mit einem Problem zu beschäftigen, das ebenso interessant für Therapie und Prophylaxis ist: die Mittel zur Diagnostizierung der latenten Malaria zu finden.

C. Leben der Stechmücken im Zusammenhang mit der Malariaepidemie.

Überall haben sich die schon bekannten Lebensbedingungen der Anopheles bestätigt. Unter anderem hat der Ingenieur Perrone wieder beobachtet, dafs die Anopheleslarven in genügend salzhaltigen Wassern nicht leben. (Celli und Casagrandi, Ficalbi, Centanni, Orta.) Vivante hat in venezianischen Lagunen diese Anschauung nur bestärken können, die bei den prophylaktischen Mafsnahmen schon ins Praktische übertragen worden ist und in Zukunft noch weiter ausgedehnt werden wird.

Was den Zusammenhang zwischen Malaria und Stechmücken anbetrifft, so hat sich auch wieder bestätigt, dafs, wo Malaria herrscht, Anopheles nicht fehlen; aber nicht an allen Orten steht ihre Quantität im direkten Verhältnis zur Schwere der Epidemie; ja es ist oft gerade das Gegenteil der Fall. Über diesen Punkt haben Dr. Gasperini und ich sehr wichtige Thatsachen hervorgehoben.

Ficalbi hatte bereits bemerkt, dafs die Anopheles so verbreitet sind, dafs man sie sozusagen überall findet. Da ich gesehen hatte, dafs sie auch an gesunden Orten leben, hatte ich bereits anderswo erwähnt: dafs die geographische Verteilung der Anopheles mit der Malariakarte nicht übereinstimmt, und dafs man sie nicht mit zu absoluter Bestimmtheit immer und auf jeden Fall als Anzeichen für Malaria betrachten könne.

Dies wurde von Nuttal, Sergent, L. Pfeiffer und anderen bestätigt. Unter der Zeit haben wir noch besonders den Paludismus ohne Malaria studiert.

Dr. Gasperini und ich haben in Toskana zahlreiche sumpfige Ortschaften gefunden, in denen sich Malaria nicht ver-

breitet, obgleich Malariakranke von auswärts kommen, einige vereinzelte Fälle auftreten, und zahllose Anopheles dort leben, die (Ficalbi) zoologisch mit denen der ungesundesten Gegenden identisch sind.

Auch in Oberitalien (Romanin-Jacur, Ficalbi) finden sich diese sumpfigen, anophelesreichen Ortschaften, wo früher schwere Malaria endemisch auftrat. In Unteritalien und auf den Inseln haben wir bis jetzt ähnliche Ortschaften nicht beobachtet. Die Ursache dieses interessanten Phänomens kann bis jetzt nicht mit Bestimmtheit nur auf die organische Immunität der Bevölkerung noch auf den gröſseren Chininverbrauch oder auf hydraulische und agrarische Assanierungsarbeiten und die meteorologischen Bedingungen geschoben werden. Wir stehen vielleicht einer Thatsache gegenüber, die sich an die Biologie der Stechmücken anknüpft, die aber auf keinen Fall, unserer Meinung nach, die neue Theorie beeinträchtigt, die heutzutage sich auf unfehlbare ätiologische, epidemische und prophylaktische Beobachtungen stützt. Auch kann man nicht ohne weiteres Nuttals Hypothese annehmen, daſs nämlich ein anderer Faktor zur Verbreitung der Malaria verschwunden sei, oder daſs andere Vehikel der Epidemie unbekannt seien, wenn unter oben angegebenen prädisponierenden Ursachen Malaria nicht herrscht.

Auch die Thatsache der vollkommen isolierten Malariafälle ist bis jetzt unerklärlich; aber in der Epidemiologie ist der Fall nicht mehr neu, und typisch epidemische Krankheiten, wie Lepra und Bubonenpest, reduzieren sich, wenn sie im Erlöschen sind, auf isolierte Fälle, die auch nicht mehr ansteckend sind.

In Holland, wo die lokalistischen Bedingungen immer dieselben sind, war die Malaria erloschen, und in den letzten Jahren tritt sie wieder auf; ähnliches ist bei uns in der Emilia passiert, z. B. in der Nähe Modenas und Bolognas. In Frankreich, Deutschland und England ist die Periode des Erlöschens der Malaria bereits überwunden, und die Anopheles, die übrig geblieben sind, sind nur noch eine historische Erinnerung an die frühere Zeit.

Es ist bis jetzt noch nicht versucht worden bei anderen Epidemien, das Rätsel dieses an und für sich wohlthätigen Ereignisses zu lösen.

Bei der Malaria versucht man die Lösung in der experimentellen Zoologie zu finden. Die Untersuchungen sind auf diesem Gebiete erst im Anfangsstadium. Bis jetzt können wir mit allem Vorbehalt sagen, dafs die Anopheles in den sumpfigen, malarialosen Landstrichen Menschen sehr wenig stechen (3,5 %); sie stechen weitaus weniger, als die der römischen und toskanischen Maremmen; und von den wenigen, die stechen, infiziert sich ein sehr kleiner Prozentsatz (2,8 %). Auf jeden Fall bietet der Paludismus und Anophelismus ohne Malaria ein neues Gebiet, um unsere epidemiologischen und prophylaktischen Kenntnisse zu erweitern.

D. Landwirtschaft und Malaria.

Es ist versucht worden, den Zusammenhang zwischen Malaria und den Bewässerungskulturen, wie Reisbau und Maceration der Textilpflanzen noch genauer kennen zu lernen und zu erklären.

Was die Reisfelder anbetrifft, so habe ich zuerst zusammen mit Gasperini auf solche bei Massarosa (Viareggio) aufmerksam gemacht ohne oder beinahe ohne Malaria; ähnliche Fälle kommen vielleicht noch wo anders vor, man mufs ihnen genau nachforschen und sie dann so genau wie möglich studieren. Auf jeden Fall sind Reisfelder immer und überall mit stehendem oder laufendem Wasser oder Wechselsystem ein bevorzugtes Stechmückennest; das eventuelle Fehlen oder seltenere Auftreten der Malaria hängt nicht von dem Wasserstand der Kultur ab, aber gehört zu dem Mysterium Paludismus ohne Malaria. Ich schliefse mich deshalb Serafini an: Dafs die Frage des Reisbaues im Zusammenhang mit Malaria noch weiterer Studien bedarf, bis dahin mufs man nicht zu sehr gegen diese Kultur predigen.

Was die Maceration der Textilpflanzen anbetrifft, hat Rossi in Marcianise (Caserta) in einer der ausgedehntesten Zonen des

Flachsbaues, die wir in Italien haben, bestätigt, dafs die Maceration an und für sich und während der Zeit ihrer Dauer Assanierungsursache ist, da sie die spezifischen Stechmückenlarven tötet.

Eine Ausnahme zu dieser Regel, die im vorigen Jahre im Ferraresischen nach genauen Untersuchungen aufgestellt war, bilden die kleinen Macerationsgruben des Veltlins, in denen Professor Galli Valerio Anopheleslarven während der Maceration sich hat entwickeln sehen.

Vielleicht hat der Flachs der Alpen weniger für die Anopheleslarven toxische Kraft als der Ferraras und Neapels? Vielleicht hängt es vom Wasser der Macerationsgruben ab? Auf jeden Fall wird es interessant sein, die Beobachtungen über dieses Vorkommnis fortzusetzen und daraufhin wird man Fall für Fall neue Regeln für die Rottergruben und die Maceration der Textilpflanzen aufstellen.

Endlich mufs noch gründlicher studiert werden, ob und wie weit die Intensivkulturen dazu beitragen können, Malaria aus einer Ortschaft auszurotten. Auf jeden Fall mufs es sich in Orten mit leichter oder mit schwerer Malaria verschieden verhalten.

E. Verlauf der Malariaepidemie und der einzelnen Epidemien des Ästiv-Autumnal-, leichten Tertiana- und Quartanafiebers.

Das Astiv-Autumnalfieber ist in ganz Italien das Fieber der gleichnamigen Jahreszeit, deshalb ist vom epidemiologischen Standpunkt aus dies sein richtiger Beiname. Ob, wie man glauben möchte, die Quotidiana sich aufserhalb Latium ebenso verhält, mufs noch näher studiert werden.

Die leichte Tertiana hat einen verschiedenen Verlauf in den verschiedenen Teilen der Halbinsel. In Norditalien und einigen Teilen der Lombardei und Venedigs fängt sie im Frühjahr an, deshalb ist der Beiname Frühjahrsfieber richtig, auch aus dem Grunde, weil sie vor der Entwicklung der Ästiv-Autumnalfieber auftritt. Auch in Rom haben wir im März zwei unzweifelhafte, primitive Fälle von leichter Tertiana gehabt (ein Fall war bei einem im Februar geborenen Kinde, der andere bei einem ein

Jahr altes Kind, das unter unserer Kontrolle aufgewachsen war). Im allgemeinen tritt sie auch hier, wenn auch wenig früher, auf als das Ästiv-Autumnalfieber; in Süditalien tritt sie wenig früher auf oder hält gleichen Schritt mit dem Ästiv-Autumnalfieber; aber auch in diesem Falle ist sie immer in gröfserer Zahl am Anfange der Fieberzeit vertreten.

Ob in Sicilien (Pachino) wirklich die leichte Tertiana nach dem Ästiv-Autumnalfieber auftritt, mufs noch genauer kontrolliert werden.

Die Quartana ist eine Epidemie für sich, d. h. eigentlich mehr Herbstepidemie, was in ganz Italien, auch in Syrakus übereinstimmend ist, und wenn sie auch (wie in Rom 1901) früher anfängt, dauert sie doch viel länger als die anderen Fieberarten. Die Inkubationszeit, die in dieser Fieberart länger ist, genügt vielleicht nicht um, allein die Ursache dieses eigentümlichen epidemiologischen Auftretens zu erklären.

Aus dem, was über die geographische Verteilung der Malariaparasiten und über den Verlauf der resp. Epidemien gesagt worden ist, gehen die Epidemietypen hervor, die ich schon beschrieb und nun mit neuen Beobachtungen vervollkommene. Sie sind:

1. Typus Süditalien.

In Latium und in den Küstenstrecken der südlichen Provinzen und auf den Inseln vertreten.

Charakteristische Merkmale sind:

Vorherrschen der Astiv-Autumnalparasiten und deren allgemein gesteigerte Virulenz.

Fehlen der Frühjahrsepidemie, der leichten Tertiana; diese tritt wenig früher oder gleichzeitig mit den Ästiv-Autumnalparasiten auf.

Epidemie im zweiten Semester des Jahres.

Dieser Typus hat zwei Abarten:

A) Eine sich im Herbst verlängernde Epidemie, wie z. B. in den pontinischen Sümpfen und in Pachino.

B) Zwischenstufe zwischen Typus Nord- und Süditalien, wie z. B. bei Marcianise und Mantua.

Das Fehlen oder die grofse Seltenheit der Frühjahrsmalaria, das geringere Vorherrschen und die geringere Virulenz der Ästiv-Autumnalfieber sind ihr charakteristisch.

2. Typus Norditalien.

Findet sich in einigen Zonen der Lombardei und Venedigs, im Cremonesischen, Mailändischen und vielleicht auch in Friuli.

Charakteristische Merkmale sind:

Die Epidemie beginnt im Frühjahr mit leichter Tertiana, die immer die verbreitetste Fieberart bleibt.

Die Epidemiezeit ist länger, da der kurze Zwischenraum nur drei bis vier Monate vom Januar bis Mai dauert.

Auch bei diesem Typus kann man eine Abart unterscheiden, wo die Frühlingsmalaria fehlt. Aber überall herrscht, wie im Veronesischen, Mantuanischen und Ferraresischen im allgemeinen leichte Malaria vor. Diese Abart vermischt sich mit der zweiten Abart des vorangegangenen Typus; es bildet sich somit eine breite Zone, die einen grofsen Teil Mittel- und Oberitaliens umfafst, nur dafs die charakteristischen Merkmale nicht so ausgesprochen sind und von Jahr zu Jahr sich Schwankungen und leichte Änderungen der Abarten und Typen bemerkbar machen.

3. Typus Nordeuropa.

Jetzt am genauesten in Holland. Die charakteristischen Merkmale sind:

Zeitiges Auftreten der Epidemie im Frühjahr. Zahlreiche leichte Tertianafälle. Keine Astiv-Autumnalfälle. Seltene Quartanafälle.

Es ist noch sehr schwer, mit der neuen Theorie die obenangeführten Typen und ihre Abarten zu erklären.

Wie ich schon anderswo bemerkt habe, genügen die Verschiedenheiten der Landarbeiten in Malariagegenden nicht, den Epidemietypus zu erklären, noch weniger die Lebensgewohnheiten der Stechmücken. Die Klimatologie ist noch zu weit zurück, um uns darüber Erklärungen geben zu können. Bis jetzt kennen

wir ja in der That noch nicht den Zusammenhang zwischen Malariaepidemie und Temperatur zur Genüge.

Man kann diesen Zusammenhang analysieren, d. h. man kann entweder die Epidemie im allgemeinen ohne Unterschied der frischen und Recidivfälle, wie sie Tag für Tag und Monat für Monat in einem grofsen Krankenhause, wie Santo Spirito, vorkommen, in Betracht ziehen; oder nur die frischen Fälle und die einzelnen verschiedenen Epidemien von Quartana, leichtem Tertiana und Ästiv-Autumnalfieber.

Wenn man die Epidemie im allgemeinen mit dem Verlauf der Temperatur vergleicht, bestätigt sich (Santori), dafs sie jedes Jahr mit mathematischer Genauigkeit immer zur selben Epoche anfängt. 1878 und 1901 ist nach den ersten wenigen frischen Infektionen eine Pause eingetreten. 1878 war ein Jahr mit sehr schwerer Malariaepidemie, 1901 mit sehr leichter und weder in diesem noch in jenem Jahre kann man mit Bestimmtheit behaupten, dafs das spätere Auftreten des Beginns der Epidemie im Zusammenhang mit der Temperatur stände. (Dr. Caccini.)

Was den Zusammenhang zwischen Temperatur und den einzelnen Epidemien anbetrifft, ist es noch schwer zu sagen, warum die leichte Tertiana in den kälteren Klimaten früher anfängt und in den wärmeren später. Der besondere, allgemein im Herbst stattfindende Verlauf der Quartana ist auch schwer zu sagen; leichter ist es, einen Zusammenhang mit dem Anfang, Verlauf und Aufhören der Ästiv-Autumnalfieber zu finden.

Verschiedene Autoren haben im vorigen Jahre einen Zusammenhang hervorgehoben zwischen dem etwas verspäteten Ausbrechen der Epidemie und den vorangegangenen Temperaturerscheinungen, die im allgemeinen kälter waren als im Vorjahre; aber nur methodische Beobachtungen, die in den nächsten Jahren fortgesetzt werden, können diese Frage entscheiden.

Überall, mit Ausnahme der Vicentinischen, hing das Aufhören der Epidemien mit der Temperaturabnahme zusammen, wie wir das in Rom durch eine lange Reihe von Beobachtungen bestätigt haben.

Auch der Zusammenhang zwischen Hämosporidieninfektion der Anopheles- und Malariaepidemie mufs noch näher erläutert werden.

Dr. Martirano fand, dafs die Infektion der Anopheles im Mai 1900 begann, im Oktober sein Maximum erreichte und bis gegen Mitte März dauerte; 1901 fing sie erst im Juni an (und die Epidemie begann auch später) und nahm Anfang des Herbstes, aber nur für kurze Zeit, zu.

Aber erst genauere Untersuchungen können entscheiden, ob sich von einem Epidemiejahr zum anderen in den Stechmücken der Ansteckungsstoff für den Menschen konservieren kann und ob sich wenigstens soviel davon konserviert, um den ersten leichten Tertianafall im Frühjahr hervorzurufen. Auch mufs der Zusammenhang zwischen der Zahl der Stechmücken und der Stärke der Epidemie noch näher festgestellt werden. Z. B. brach in Trinitapoli 1901 eine Recidivepidemie im Juli und August aus (nach Martirano und Labranca) und die Malaria erlosch trotz Stechmücken und günstiger Temperatur viel früher und trat viel milder auf als im benachbarten Foggia. Hängt diese Thatsache mit einer nach 2 Jahren schwerer Malaria erlangten Immunität der Bevölkerung Trinitapolis zusammen? Auf jeden Fall ist dies schwer zu erklären; und man mufs diese Recidivepidemien im Sommer ohne darauffolgende angemessen schwere Epidemie frischer Infektionen trotz des Vorhandenseins direkter (Halbmondformen im Blute, Stechmücken) und prädisponierender (Temperatur) epidemischer Ursachen noch genauer studieren.

Die periodischen Schwankungen der Malaria lassen sich mit Bestimmtheit auch noch nicht mit der neuen Theorie feststellen; weder die pandemische Zunahme noch die jährliche Abnahme und das vollkommene Erlöschen, das manchmal auch dort vorkommt, wo die lokalen Bedingungen (Sümpfe, Anopheles) fortdauern.

Es ist interessant, diesbezüglich darauf hinzuweisen, dafs in den allerletzten Jahren von 1899 an in der Nähe Modenas und Bolognas die Malaria wieder aufgetreten ist, wo sie bereits erloschen

war, oder wieder sehr heftig aufgetreten ist, wo sie bereits im Erlöschen war. In Modena schob man es auf die Neubildung eines sumpfigen Terrains (Dr. Boccolari). In Bologna kamen, nach Prof. Brazzola, in den letzten Jahren einige vereinzelte sogenannte sporadische Malariafälle vor, aber in der zuletzt befallenen Ortschaft waren vor 1899 nie Malariafälle vorgekommen und die erkrankten Individuen waren nie in Malariagegenden gewesen. Prof. Emery hatte in der Nähe Bolognas stets eine grofse Anzahl Anopheles beobachtet. Warum hatte die Malaria dort beinahe anfgehört? Warum ist sie 1900—1901 in einer engbegrenzten Zone wieder aufgetreten?

Das Studium dieses Erlöschens und Wiederauftretens der Malaria beginnt jetzt, und es wird sehr interessant sein, es zu verfolgen.

II. Teil.

Malariaprophylaxis.

»Die Malariaprophylaxis ist ein nicht minder kompliziertes Problem als die der meisten Epidemien und duldet deshalb keine zu einfache Lösung. Jeder zu einseitige Vorschlag mufs Mifstrauen erwecken, denn eine Plage, die seit Jahrhunderten über so viele Länder verbreitet ist, kann nicht nur von einer Seite angegriffen, ausgerottet werden.« So schrieb ich vor einem Jahre und das wiederhole ich heute nach der antimalarischen Campagna 1901. Ich verfolgte während derselben den Zweck, ohne Vorurteil alle von mir und anderen seit 1899 vorgeschlagenen Mafsregeln anzuwenden, speziell dann die präepidemische Behandlung der Recidive, die medikamentöse Prophylaxis und die mechanische Prophylaxis.

Ich will hier kurz die Resultate berichten:

A. Präepidemische Behandlung der Recidive.

Es hat sich leider wieder bestätigt, dafs einige Fieber so hartnäckig sind, dafs sie trotz langer Chininkuren oder Eisen-Arsenik-Chininkuren weiter recidivieren,

Die Untersuchungen Dr. Schoos in Holland betreffs der Resistenz der Gameten dem Chinin gegenüber beweisen, dafs mit diesem specifischen Mittel die Gameten der leichten Tertiana im Blute Malariakranker steril werden. Anderseits ist aber bekannt, dafs Gualdi, Martirano, Bastianelli und Bignami bewiesen haben, dafs auch durch langen Chiningebrauch die Halbmondformen in den Stechmücken nicht steril werden. Das Verhalten des Chinins den verschiedenen Arten der Malariaparasiten gegenüber mufs noch genauer untersucht werden.

Auf jeden Fall hat sich bestätigt, dafs es nicht selten, auch bei reichlichstem Chiningebrauch gelingt, die Entwicklung und Ausbreitung der Fieberepidemie zu verhindern.

Dies ist zweifellos in Holland (Dr. Schoo) und in Italien im Veronesischen, Mantuanischen und Ferraresischen bewiesen worden, wo Chinin reichlich als Kurativmittel gebraucht wird und nichtsdestoweniger die Malaria fortdauert.

Trotzdem habe ich die präepidemische Kur der Recidive noch einmal versuchen wollen, indem ich starke Dosen Chinin hydrochl. auch lange Zeit nach der augenscheinlichen Fieberheilung gab.[1])

Tabelle I.

Präepidemische Behandlung der Recidive 1901.

Untersuchungsstationen	Zahl der Einwohner	Erkrankten an Recidiven	Prozent	Neu-erkrankungen	Prozent	Kontrolle
Salone (Campagna romana)	120	57	47,50	15	12,50	11 °/₀
Marano Lagunare (Udine)	1319	145	10,90	58	4,39	—

Diese Experimente wurden in Salone in der Campagna romana und in Marano Lagunare (Venedig) gemacht.

1) Die Kur bestand darin, dafs ich Erwachsenen täglich die ersten 4 Tage 1½ g Chinin hydrochl. gab, die nächsten 4 Tage 1 g und noch 14 Tage täglich ½ g. Gröfseren Kindern die Hälfte, kleineren den vierten Teil.

Dr. Carnevali und Dr. Bianchi behandelten in oben beschriebener Weise so gut wie möglich jedes Recidiv.

Tabelle I zeigt, dafs am erstgenannten Orte trotzdem 12,50 % an Fieber neu erkrankten und gleichzeitig nur 11 % auf dem benachbarten Gute Lunghezza ohne jede präepidemische Behandlung, da ein leichtes Malariajahr war.

In Marano Lagunare erkrankten nur 4,39 % neu; aber auch hier ist zu bemerken, dafs die Malaria im Verhältnisse zu den vorangegangenen Jahren sehr leicht auftrat.

Der Sanitätsinspektor Ricchi liefs ebenfalls bei den Eisenbahnwärtern der Rete adriatica alle möglichen Mafsregeln mit grofsem Eifer anwenden, um in der prämalarischen Epoche die Recidive auszuheilen. Während des ganzen Winters und Frühlings wurden diejenigen, die seit weniger als 2 Jahren am Fieber litten, mit spezifischen und rekonstruierenden Mitteln (wie Chinin hydrochl. in Tabletten, subcutanen Chinineinspritzungen, Arsengelatine, Eisenarsenlikör) behandelt. Aber trotzdem blieben die verlorenen Arbeitstage 1901 in den ungeschützten Häusern dieselben wie 1900, und auch in den geschützten Häusern, trotz sorgfältigster ärztlicher Überwachung und genauester Behandlungsweise, war die Zahl der Recidive doch ziemlich hoch, wie aus nachstehender Tabelle hervorgeht.

Tabelle II.

Zahl der Recidive 1901.

	Beamte	Zahl der Beamten	Erkrankungen an Recidiven	
			Zusammen	Prozent
Adriatische Eisenbahn-Gesellschaft	vollkommen geschützt	1600	446	27,87
	unvollkommen geschützt	406	32	7,48
	nicht geschützt	651	295	45,31

Es geht daraus hervor, dafs 45 % der nicht Geschützten und 27 % der vollkommen Geschützten an Recidiven erkrankten; sicherlich ist der Unterschied von 18 % nicht auf die präepidemische Behandlung zu schieben (die ungefähr für alle gleich

war), aber vielmehr darauf, dafs durch die mechanische Prophylaxis die sogenannte Pseudorecidive vermieden worden sind, die man nicht von den eigentlichen Recidiven unterscheiden kann, obgleich es frische Infektionen sind, an denen Individuen, die von ihrer vorjährigen Malaria geheilt waren, durch neue Mückenstiche erkrankten.

Auf jeden Fall geht wieder die Hartnäckigkeit daraus hervor, mit der die Fieber trotz jeder kurativen Behandlung recidivieren.[1])

Auf jeden Fall mufs in den folgenden Jahren an denselben Orten wie im vorigen Jahre und an anderen Orten mit schwererer Malaria mit der nötigen Kontrolle die präepidemische Behandlung der Recidive wiederholt werden, um genauer feststellen zu können, was man daraus Gutes herausschlagen kann.

Ich bin immer noch überzeugt, dafs Kochs Behauptung, diese Behandlung in weitem Mafsstabe angewandt, die Malaria ausrotten könne, eine Übertreibung ist, schon aus der Schwierigkeit, auf die man in der Praxis stöfst, und aus den vielen bereits von mir ausgeführten Gründen, alle Malariakranken eines Ortes regelmäfsig und beständig mit Chinin zu behandeln, aus der Unmöglichkeit, das Ende der latenten Malaria zu diagnostizieren und aus biologischen Gründen. Ich glaube aber, dafs in streng abgegrenzten und isolierten Orten man damit in bestimmten Fällen etwas erreichen kann, und deshalb werde ich auch zur nächsten Malariazeit mit diesen Versuchen fortfahren.

Welche Vorteile hat bei der Behandlung der Recidive die Verbindung des Chinins mit Eisen und Arsenik?

Seitdem Prof. Baccelli sie vor 40 Jahren vorschlug, wird sie bei der Behandlung chronischer Malaria in verschiedener Form und unter verschiedenem Namen angewendet; das beweist, dafs sie nützlich sein kann. Der wahre Grund dafür ist, dafs Chinin allein die Krankheit angreift, während Eisen und Arsenik

1) Beim Durchlesen der Druckbogen habe ich eine Arbeit Gauthiers (Académie des sciences, Februar 1902) gelesen, der sich sehr viel von der Natronkakodilat verspricht. Ich kann diese Hoffnung aus eigenen Erfahrungen und aus den in Santo Spirito vorgenommenen Experimenten nicht teilen, trotzdem mag man nochmals Versuche anstellen.

rekonstruierende Mittel sind. Aber niemand hat je zu behaupten gewagt, bevor nicht leider auch unter wissenschaftlichem Mantel gewisse Übertreibungen hervorgetreten sind, dafs diese Mixtur unfehlbar die Recidive heile. Wenn letztere hartnäckig sind, ist es angebracht, die Form des Heilmittels zu ändern (Pillen, Pulver, Tabloiden), um Chinin auf diese Weise länger geben zu können; diese stärkenden Mittel kann man auch einzeln oder getrennt flüssig verabreichen.

Dieses alles ist dem behandelnden Arzte Fall für Fall überlassen; trotz regelmäfsiger Behandlung darf man sich nicht wundern, wenn auch nach langen Zwischenräumen Recidive auftreten. Schliefslich ist jede Behandlung der latenten Malaria, da uns ein diagnostisches Mittel fehlt, empirisch; und ein unfehlbar spezifisches Heilmittel gegen latente Malaria kennen wir nicht.

B. Medicamentöse Prophylaxis.

Ich habe bei meinen Untersuchungen über die Immunität bei Malariainfektion gezeigt, dafs man das, was man heutzutage noch nicht mit der Serumtherapie erreicht, durch spezifische antimalarische Medikamente erhalten kann. Zahlreiche Experimente mit Chinin als Präventivmittel sind von den Kolonisatoren Afrikas angestellt, für die es wertvoller war als das Schiefspulver, wie ebenfalls von den amerikanischen Truppen während des Sezessionskrieges und den Ärzten Ostindiens und Südafrikas.[1]) Die Resultate dieser Experimente, Chinin als antimalarisches Prophylaktikum zu gebrauchen, waren günstig, wenn es in therapeutischen Dosen angewandt wurde. Bis 1899 wurde bei uns das unverdauliche Chinin sulf. angewandt; in den warmen Fiebermonaten, wo Magenstörungen schon an und für sich häufig sind, wurde es auf die Länge der Zeit nicht vertragen, daher wurde schon der Vorschlag gemacht, es in Zwischenräumen von 4—10 Tagen zu nehmen. Wegen dieser Schwierigkeiten

1) Siehe Prof. C. Binz, Chinin als Prophylaktikum bei Malaria. Dr. C. Graeser, Das prophylaktisch angewendete Chinin bei Malariafieber. Berliner klin. Wochenschr., 1888, Nr. 42.

hatte ich 1899—1900 Versuche mit Euchinin angestellt, was den grofsen Vorteil hat, ½ g 5—6 Minuten lang vertragen zu werden, aber den Nachteil hat, dafs es sehr teuer ist und im grofsen Mafsstabe deshalb nicht anzuwenden ist.

Ich wollte dieses Jahr ebenfalls, da sich einige Chininsalze als Präventivmittel bei experimenteller Malaria als wirksam erwiesen hatten, die löslichsten, am bestverdaulichsten und billigsten Chininsalze zu einem vergleichenden Experiment anwenden. Es wurden diejenigen Erwachsenen und Kinder ausgesucht, die im vergangenen Jahre nicht an Fieber gelitten hatten, um nicht mit Recidiven oder eventueller Immunität nach erlittener Malaria zu rechnen zu haben. Zum Vergleiche wurde noch einmal mit Euchinin und einer der bekanntesten Chinin-Eisen-Arsenikmixturen experimentiert.

Tabelle III (s. S. 259) fafst die wichtigsten Daten und die Sammelresultate dieser Experimente zusammen.

Es geht daraus hervor, dafs an den 208 mit Chinin bisulf. und hydrochl. behandelten Personen 4 erkrankten (2%), an den 283 mit Euchinin behandelten 10 (3,5%), von den mit oben angeführter Mixtur behandelten 40. 5 (12,5%).

Chinin bisulf. und hydrochl. haben als prophylaktisches Mittel sehr gute Wirkung. Auch vom therapeutischen Standpunkte aus ist es vielleicht leichter, Malaria zu verhindern als zu behandeln, da die Sporozoiten dem Chinin gegenüber weit weniger widerstandsfähig sind als Parasiten der Recidive und Gameten. Es wird daher von grofsem Nutzen sein, die oben genannten leicht löslichen und billigen Chininsalze und ebenfalls Chinin lieber[1]) in Malariaorten als Präventivmittel in gröfserem Mafsstabe anzuwenden.

Es ist schon an und für sich interessant, dafs der Organismus mehr als man anfänglich glaubte,

1) Mit diesem Salze als Prophylaktikum in Dosen von 25 cg pro Tag, bei einigen Bauern im Mantuanischen angewendet, hatten wir auch sehr gute Erfolge.

Tabelle III.

Medicamentöse Prophylaxis.

Name des Ortes	angewandte Medikamente	Dauer der Behandlung	Zahl d. behand. Personen	Erkrankten an Recidiven	Prozent	Neu-erkrankungen	Prozent	Kontrolle	Leiter der Experimente	Beobachtungen
Corcolle u. Castiglione (Campagna romana)	Chin. bisulf.	7. Juli bis 7. Aug. 23. Juli bis 5. Aug.	50	—	—	—	—	25%	Römisches Sanitätsamt	25 ctg jeden zweiten Tag bis 1/2 g pro Tag
do.	Chin. hydroc.	25. Sept. bis 31. Okt.	98	—	—	—	—	37 »	do.	1/2 g pro Tag
Grezzano (Verona)	Chin. hydroc.	1. Juli bis 31. Okt.	35	1	2,85	1	2,85	66 »	Dr. Vivenza	50 ctg bis 1 g jeden Sonnabend
Argenta (Ferrara)	Chin. hydroc.	1. Juli bis 15. Nov.	25	—	—	3	12,00	28 »	Dr. Orta	1 g jeden fünften Tag
Corcolle u. Castiglione (Campagna romana)	Euchinin	25. Sept. bis 31. Okt.	103	—	—	—	—	37 »	Römisches Sanitätsamt	0,50—0,75—1 g pro Tag
Carlino (Udine)	Euchinin	1. Juli bis 31. Okt.	24	—	—	1	4,00	40 »	Dr. Giussani	25—50 ctg pro Tag
Vigazio (Verona)	Euchinin	1. Juli bis 31. Okt.	50	—	—	3	6,00	66 »	Dr. Polettini	25—50 ctg pro Tag
Foro Appio	Euchinin	5. Okt. bis 10. Dez.	42	—	—	—	—	20 »	Dr. Mariani	50 cbg pro Tag
Argenta (Ferrara)	Euchinin	1. Juli bis 15. Nov.	64	—	—	6	9,37	31 »	Dr. Orta	25—50 ctg pro Tag
Grezzano (Verona)	Chin. Eisen-Arsenik	1. Juli bis 31. Okt.	40	5	12,50	7	17,50	66 »	Dr. Vivenza	1/2—2 Pillen pro Tag

jeden Tag und lange Zeit hindurch gröſsere Dosen Chinin ohne Beschwerden duldet.

Individuelle Gegenerklärungen fehlen natürlich nicht (Magenbeschwerden, Chinismus, ausnahmsweise Hämoglobinurie).

Wenn künftige Experimente die oben angeführten Experimente bestätigen sollten, darf man nicht glauben, daſs die Chininprophylaxis überall die Alleinherrscherin bleiben wird; es wird immer lästig sein, jeden Tag zur bestimmten Stunde eine wenig oder gar nicht angenehme Medizin zu nehmen, und es oder können. Man müſste ein leicht verdauliches Chininwird immer welche geben, die sie nicht nehmen wollen präparat mit gutem oder gar keinem Geschmack erfinden. Aber diese Prophylaxis wird immer angewendet werden müssen, wo Wohnungen fehlen oder derartig mangelhaft sind, daſs man sich in ihnen nicht vor dem Fieber schützen kann; ebenfalls in den Fällen, in denen der Aufenthalt an ungesunden Orten nur kurz ist, da die landwirtschaftlichen Arbeiten nicht sehr lange Zeit einnehmen (Weizen-, Reis-, Mais- und Zuckerrübenernte) oder in denen die Arbeiten nachts gethan werden müssen.[1]) Man muſs vor allen Dingen die Minimaldosis feststellen; Experimente werden bereits unternommen, um genauer festzustellen, wie und in welcher Quantität die Chininsalze absorbiert und abgesondert werden.

Auch mit Euchinin haben wir wieder sehr günstige prophylaktische Erfolge gehabt. Vor allen Dingen hat es die gute Eigenschaft, länger als die anderen Chininsalze (5—6 Monate hintereinander) in gröſseren Dosen $^1/_2$ bis 1 g vertragen zu werden. Da es aber den Nachteil hat, sehr teuer zu sein, wird es in der Praxis nicht viel Anwendung finden und immer ein Luxusprophylaktikum bleiben.

Die Mixtur aus Eisen, Arsenik und Chinin hat ungünstigere Resultate erzielt als alle oben angeführten Chininsalze.

Ein ähnliches Kontrollexperiment wurde von Dr. Vivenza in Grezzano (Verona) angestellt. Dieser sehr genaue Beobachter

1) 1900 wendete ich bei den Nachtdienst thuenden Bahnwärtern die medikamentöse Prophylaxis mit gutem Erfolg an.

hatte bei Anwendung des Chinins hydroch. (siehe Tabelle III) bei einem Teil derselben Bevölkerung 2,85 Recidive und 2,85 Neuerkrankungen, bei Anwendung genannter Mixtur in Pillen 17,50 Recidive und 12,50 Neuerkrankungen.

Wenn man in der That die Bestandteile dieser Mixtur auf ihre präventive Wirkung hin prüft, so kann man vom Eisen gar nichts in der Beziehung erwarten. Arsenik ist als prophylaktisches Mittel gegen Malaria viel gewählt und benützt worden. Jahre hindurch wurde es in den verschiedensten Teilen Italiens im grofsem Mafsstabe bei den Eisenbahnbeamten angewendet; aber nach den ersten Hoffnungen kamen die Enttäuschungen und die Prophylaxis mittels Arsenik wurde beiseite gelassen. Zu der letzten Malariazeit wandten wir es wieder in einem sehr wohlschmeckenden Likör mit Eisen zusammen an. Auf 43 Personen, die diese Kur mit grofsem Eifer betrieben, hatten wir Recidive und Neuerkrankungen, zusammen 34,7 % Malariaerkrankungen in einem relativ milden Malariajahr wie 1901.

Ich habe auch experimentell Versuche mit Arsenik angestellt, indem ich einem Individuum 1 Monat vor und 1 Monat nach einer Einspritzung von leichtem Tertianablut Arsenik gab, ohne dadurch die Entwicklung des Fiebers verhindern zu können.

Arsenik und Eisen haben als Präventivmittel bei Malariainfektionen einen sehr problematischen Wert, und es ist daher nicht angebracht[1]) in der warmen Fieberjahreszeit den Magen damit unnütz zu belasten und es dem Chinin vorzuziehen. Dieses ist bis jetzt das einzige spezifische Präventiv- und Kurativmittel bei Malaria. Es ist deshalb praktischer und billiger, es ohne weiteres in einer angenehmen, so wenig als möglich ekelhaften Form zu geben (Tabloiden oder Pillen aus Chinin bisulf., hydrochlor. und bichlor. mit Zuckergufs). Dieses Mittel werde ich zur nächsten Malariazeit reichlich zu präventiven Zwecken da anwenden, wo aus irgend welchen Gründen die mechanische Prophylaxis nicht möglich ist, oder um diese zu vervollständigen.

1) Es ist bekannt, dafs Eisen-Arsen-Kuren im Sommer oft nicht vertragen werden und deshalb unterbrochen werden müssen.

C. Mechanische Prophylaxis.

Die Sitte, Häuser vor dem Eindringen bösartiger Insekten zu schützen, ist sehr alt. Nach Adam[1]) brachten die alten Römer manchmal Drahtnetze an den Fenstern an (fenestrae reticulatae ne quod animal maleficum introire queat: Varr. R. R. III. 7) oder bedeckten sie mit Schleier (obductis velis: Plin. Ep. VII. 21).

In neuerer Zeit haben Amerikaner und zum Teil die Holländer die Sitte übernommen, ihre Häuser mit Drahtnetzen vor dem Eindringen bösartiger Insekten zu bewahren. Bei uns wurde dieser eben so praktischer wie nützlicher Brauch nur ganz ausnahmsweise angewandt[2]). 1898 machte Fermi nach den klassischen experimentellen Studien Ross' auf meinen Rat die ersten prophylaktischen Versuche gegen Malaria in den pontinischen Sümpfen mittels Schutzvorrichtungen der unbedeckten Teile des menschlichen Körpers. Im Frühjahr darauf, 1899, wandte ich bei den Bahnwärtern der Linie Prenestina—Cervara und Pontegalera die erste vollkommene reguläre mechanische Prophylaxis an, indem ich die Häuser vor dem Eindringen der Stechmücken und die unbedeckten Körperteile vor dem Stechen derselben schützte. Einige Familien konnten auf diese Weise Sommer und Herbst zum ersten Male in Gegenden mit schwerer Malaria in bestem Wohlsein verbringen. In den benachbarten als Kontrolle dienenden nicht geschützten Wohnungen herrschte Malariafieber wie zuvor.[3]) 1900 dehnte ich die mechanische Prophylaxis auf die Eisenbahnlinien Tivoli, Monterotondo, Pontegalera, Anzio und Terracina und auf die Bauern der Cervelletta (römische Campagna), Grassi auf die Eisenbahnlinie Albanella (Battipaglia Reggio) Martirano auf den Apulinischen

1) Antichità romane, Tom. III, p. 213, Neapel 1826.

2) Nach Grassi auf dem Gute »Pescia romana«.

3) Grassi wandte die Drahtnetze am Turm in Maccarese, dem Beispiel der Pescia romana folgend, zu einer Jahreszeit an, wo die Fieberzeit in der römischen Campagna noch nicht begonnen hat. Im August liefs er ein Bahnwärterhaus ähnlich schützen und schlief eine Woche lang mit seiner Familie darin. Im Herbst machte De Mattei in Sicilien ähnliche, aber länger dauernde Experimente.

Linien (Ofantino) aus, und die Resultate waren überall glänzend. Zur vergangenen Malariazeit wurde die mechanische Prophylaxis auf den adriatischen und mediterraneen, westsicilianischen und sardinischen Eisenbahnlinien ausgedehnt, die am meisten des Fiebers wegen gefürchtet sind, aufserdem auf die Zollbeamten der ungesundesten Ortschaften, auf die Arbeiter und Gefangenen der Salinen Cornetos, Strafsen- und Assanierungswärter der Provinzen Rom, Grosseto und Ravenna, auf die Bauern in Latium (unteres Thal des Anio, Castel Porziano, Santa Maria di Galeria, Le Castella, Foro Appio. etc.) im Veronesischen (Grezzano) und endlich auf die Arbeiterinnen einer grofsen Seidenfabrik in der mailändischen Tiefebene etc.

Die Protektionsmethode der Häuser war bis auf kleine Vervollkommnungen dieselbe wie in den vergangenen Jahren, die jetzt ja ziemlich allbekannt ist. Alle erkennen jetzt den Nutzen einer gröfseren äufseren Veranda (Fig. 3) aus Drahtnetzen an der Eingangsthür an, um den Leuten die Möglichkeit zu lassen, im Freien zu sitzen, ohne von Mücken gestochen zu werden. Die Eingangsthür ebenfalls aus Draht mit automatischen Selbstschliefser, eine ähnliche Thür auf der Treppe, um die Schlafzimmer besser zu schützen. Als Kaminverschlufs bewies sich ein Eisenrahmen mit Drahtnetz am praktischsten, der durch eine Öffnung in der Küche vor das Schornsteinrohr geschoben wird. Alle 10 bis 14 Tage kann er herausgezogen und von Rufs gereinigt werden, um keinen Rauch in der Wohnung zu haben.

In den Bauernhäusern sind Aufsenthüren aus Drahtnetz vor die Stallthüren zu vermeiden, nur die Verbindungsthür zwischen Wohnung und Stall mufs geschützt werden.

Wo es notwendig ist, sich zum Fenster herauszubeugen, müssen die Drahtnetze zum schieben sein, so dafs man den Kopf herausstrecken kann. Als Drahtnetz wendet man am besten eisenverzinnten Draht an, oder man streicht den Draht mit einer seeluftfesten Farbe an, die die ätzendste ist.

Es ist notwendig, auf diese Einzelheiten einzugehen, da manchmal die Schutzvorrichtungen ohne sie unpraktisch oder unbrauchbar sind.

Um die unbedeckten Körperteile vor den Stichen der Insekten zu schützen, wurden, wie bekannt, Hüte mit Schleiern und Visieren aus ganz dünnem Metalldraht und Handschuhe aus dickem Stoffe benutzt. Wenn aber die Stechmücken die Leute nicht belästigen, ist es in der Praxis schwer, sie zu veranlassen,



Fig. 3.

diese Schutzmittel für die Haut zu gebrauchen, speziell wenn sie anstrengend arbeiten müssen.

Das Haus in Sumpfgegenden am Tage von Fliegen und anderen Insekten und nachts von Mücken frei zu halten, sind, schon unabhängig von ihrer Wirkung gegen Malaria, Annehmlichkeiten und Bequemlichkeiten der Schutzvorrichtungen.

Gewifs hat ein so praktisches Volk wie die Amerikaner dieses System nicht zwecklos schon seit Jahren in feucht-warmen Orten

benutzt. Ich bin überzeugt, dafs es sich bei uns immer mehr einbürgern wird.

Im vergangenen Sommer haben schon viele Personen aus eigener Initiative ihre Häuser schützen lassen. Allein auf meinen Rat hin wurden über 5000 Personen in den verschiedenen Teilen Italiens vor Malaria derart geschützt.

Die prophylaktischen Resultate gibt Tabelle IV an.

Tabelle IV.

Mechanische Prophylaxis.

Orte	Zahl der geschützten Personen	Erkrankten an Recidiven	Prozent	Neu-erkrankungen	Prozent	Kontrolle	Beobachtungen
Aniotha	354	51	14	7	1,9	25,37 %	
Saline Cornetos	71	21	29,57	2	2,81	26,31 %	
Zuchthaus Porto Clementino	215	12	5,58	5	2,33	—	
Castel Porziano	50	4	8	0	0,00	—	
Foro Appio	120	3	2,50	0	0,00	20 %	unvollkommene Schutzvorrichtung.
Bagnolo di Lonigo	7	0	0,00	1	14,28	80 %	
Marano Lagunare	6	0	0,00	0	0,00	57,14 %	
Grezzano (Verona)	22	1	4,54	1	4,54	60 %	
Mailand (Molino doppio)	80	4	5	2	2,50	—	
Argenta (Ferrara)	61	0	0,00	9	14,75	273 %	do.
Ravenna	41	0	0,00	1	2,43	—	
Linie Rom-Vada (Pisa)	1592	359	22,55	23	1,50	—	
Linie Rocchetta-Monticchio	86	16	18,06	8	9,04	96 %	
Adriatische Eisenbahnlinien	1600	446	27,87	32	2	48,23 %	
Sardische Eisenbahnlinien	60	0	0,00	0	0,00	—	
Westsicilianische Eisenbahnlinien	66	4	6,06	2	3,03	60 %	
Linie Rom-Vada (Pisa)	314	91	28,98	26	8,21	—	do.
Linie Rocchetta-Monticchio	14	4	28,07	2	14,03	96 %	do.
Adriatische Eisenbahnlinien	406	32	7,48	50	12,3	48,23 %	do.
Im ganzen	5165	1048	20,2	171	3,03		

Die Orte wurden immer zu den Experimenten gewählt, die ihrer Ungesundheit wegen in den vergangenen Jahren berüchtigt waren.

Das Personal, das so geschützt wurde, lebte bereits an den Orten oder (Zollbeamte und Beamte der westsicilianischen Eisenbahn) wurde im Sommer und Herbst aus gesunden Ortschaften dahin versetzt. Im ersteren Falle wurden die Recidive in der präepidemischen Zeit so weit dies möglich war, behandelt. Wenn die Epidemie begann, hörte jede Art der Behandlung auf, ausgenommen natürlich bei denjenigen, die noch stark an Recidiven litten oder bei einigen Neuerkrankungen.

Als Kontrolle dienten die am selben Orte oder in der Nähe wohnenden Leute. Die Kontrollzahlen der Tabelle IV stellen den Prozentsatz der an frischer Malaria oder Recidive Erkrankten dar; wo die Kontrollzahlen fehlen, fehlte die Kontrolle nicht, aber wir konnten die Zahl nicht mit arithmetischer Genauigkeit feststellen.

Von den geschützten Personen erkrankten kaum 20% an Recidiven und 3,3% an frischer Malariainfektion.

Die Schutzvorrichtungen waren aus verschiedenen Gründen öfters nicht vollkommen. Ich teile deshalb die Resultate in zwei Kategorien: Die 4363 Personen, die in den gänzlich geschützten Häusern wohnten, 802, die in teilweise geschützten Häusern wohnten.

Die Resultate waren folgende:

I. Kategorie 4363 Personen. Recidive 921 (21,1%), Neuerkrankungen 83 (1,9%).

II. Kategorie 802 Personen. Recidive 127 (15,8%), Neuerkrankungen 88 (16,9%).

Genauer genommen schwankt *der Prozentsatz der Neuerkrankungen in den gänzlich geschützten Häusern von 0—4,54 und erreichte ausnahmsweise* 9,04%. Im Durchschnitt also 1,90%. Wenn man an die Schwierigkeiten denkt, speziell an die Orte, wo die mechanische Prophylaxis zum ersten Male angewendet wurde, kann man ohne Übertreibung

sagen, dafs die Resultate bei einem so ausgedehnten Experimente nicht glänzender sein konnten.

Auch in den nur teilweise geschützten Häusern (nur die Schlafzimmer waren geschützt) waren die Resultate günstig mit einem Prozentsatz Neuerkrankungen, die von 12,3 bis 14,75% schwankt, im Durchschnitt 10,97%. Der alleinige Schutz der Schlafzimmer nützt also nur, eine vorzugsweise Hausepidemie, wie die Malaria, abzuschwächen. Man sollte deshalb nicht unterlassen, wenn aus dienstlichen Gründen oder wegen Nachtarbeit keine bessere und vollkommenere Schutzvorrichtung möglich ist, diese wenigstens anzuwenden.

Die mechanische Prophylaxis nutzt nicht nur, wie ich bereits seit 1899 bewiesen habe, die Ansteckungsgefahr bei Malaria zu verhindern oder zu begrenzen, sondern auch die Rekonvalescenz bei Recidivinfektionen zu erleichtern. Es wird dadurch verhindert, dafs Personen, die seit Jahren an Malaria leiden, frisch gestochen werden. Dadurch wurden die Sumpffieber früher in eine Familie jahrelang bis zur Cachexie erhalten. Durch die mechanische Prophylaxis und die geeignete medikamentöse Behandlung konnten viele Familien, die seit Jahren von Fiebern heimgesucht waren, wie zu neuem Leben erstehen.

Die Schlufsfolgerung ist also, dafs, wo ein Haus oder eine Behausung existiert, die mechanische Prophylaxis erhebliche Dienste leisten kann; wo man sie anwenden kann, ist sie alles in allem die praktischste und bequemste. Aufser vor den Fiebern zu bewahren, hat sie noch viele andere Vorteile für diejenigen, die in Sumpfgegenden leben müssen. Die Menge der Annehmlichkeiten erklärt die Verbreitung dieses neuen Hausschutzes in so relativ kurzer Zeit.

Im nächsten Jahre wird die mechanische Prophylaxis in noch viel gröfserem Mafsstabe auf den Eisenbahnen, den Kasernen den Zollbeamten, Bauernhäusern etc. ausgedehnt werden. Noch viel gröfsere Verbreitung würde sie finden, wenn man sich überzeugen würde, dafs, um die Schlafzimmer zu schützen, die, wie gesagt, bei der Infektion die gefährlichsten sind, es genügt, Garn-

oder Baumwollnetze statt der kostspieligen Drahtnetze anzuwenden. Ich benutzte sie bei meinem ersten Experimente 1899 und ich kann nur raten, sie so viel als möglich in den Häusern der Armen anzuwenden.

D. Stechmücken-Vernichtung.

Das Meerwasser hat dabei, wie vorherzusehen war, vorzügliche Resultate bei den Salinen Cornetos und längs der Küsten Pachinos gegeben.

Der Ingenieur Streri hat eine sehr praktische Pumpe erfunden, um die Süſswasserkanäle mit Meerwasser auszuspülen und zu desinfizieren, die mit Wind oder einer kleinen Dampfmaschine getrieben werden kann. Da es jetzt zweifellos ist, daſs in genügend salzhaltigem Wasser die Mückenlarven nicht leben können, und daſs daher das Meerwasser larvicide Kraft besitzt, wurden einige Sümpfe längs der Küste auf diese Art assaniert, und konnten die Ausgaben zur Assanierung der an und für sich larvenlosen, da salzhaltigen Seen, in der Provinz Lecce gespart werden.

Larvicid wurde um die Stadtmauern Bolognas herum und anderweitig ebenfalls mit gutem Erfolg angewendet. Trotzdem wird die Vernichtung der Stechmücken schwerlich und höchstens in Ausnahmefällen als prophylaktisches Mittel gegen Malaria benutzt werden können.

E. Die hydraulischen Assanierungs-Arbeiten[1]).

hingegen haben und werden immer die gröſste Wichtigkeit bei der Malariaprophylaxis haben. Man muſs aber nicht glauben, daſs sie überall und immer ausgestreckte Gebiete vollkommen ohne weiteres assanieren können. Das hygienische Ideal einer hydraulischen Assanierung wäre, wenn man von der Bodenoberfläche alles Wasser entfernen könnte und das übrig gebliebene Wasser in immerwährende Bewegung setzen könnte.

1) Siehe meine drei Vorlesungen, Bonifiche e Malaria, Sonderabdruck aus dem »Policlinied«, Mailand, 1901.

Speziell in den grofsen Sumpfbassins und in den ausgedehnten Küstenstrichen ist es nicht immer möglich, diese Bedingungen zu erfüllen, da das Wasser vollkommen zu entfernen oder in kontinuierlicher Bewegung zu halten, nicht leicht und manchmal vollkommen unmöglich ist. Man mufs also nicht etwa annehmen, dafs jedes Assanierungssystem gleichzeitig als hydraulisch, aber auch als hygienisch gelungen bezeichnet werden kann. Z. B. bewegt sich das Wasser bei der Assanierung mit natürlichem Gefäll in den sekundären und tertiären Kanälen und den kleinen Sammelbecken kaum oder gar nicht, da es von Sumpfvegetation aufgehalten wird. So bleiben häufig strichförmige Moräste und dadurch ein Nest der Stechmückenlarven und Malariaursache.

Auch die Assanierungen durch mechanische Trockenlegung haben manchmal hygienisch sehr beschränkten oder gar keinen Erfolg. Gewöhnlich fehlen Stechmückenlarven in den grofsen Kanälen in der Nähe der hydrophoren Maschinen, aber in allen übrigen Kanälen, speziell in der Nähe des Ufers, sind sie reichlich vorhanden. Wenn die hydrophoren Maschinen einen hygienischen Nutzen haben sollten, müfste man darauf bestehen, dafs alles oberflächliche Wasser ausgepumpt würde. Dies würde aber im Interesse der Landwirtschaft nicht angängig sein, und die Betriebskosten würden sich erheblich verteuern.

Die Assanierung durch Erdanschüttung kann in den langen Jahren ihrer Dauer eine Zunahme der Malaria verursachen; zum Schlufs kann sie nur dann hygienisch vollkommen sein, wenn man die gröfste Sorgfalt auf das Systematisieren und Erhalten der übriggebliebenen Kanäle verwendet.

Ein häufig gutes Hilfsmittel für die Assanierung eines Malariagebietes, das manchmal von gröfster Wichtigkeit sein kann, ist die Drainage.

Diese Arbeiten sind thatsächlich für das Leben der Stechmückenlarven schädlich, und in England, Frankreich und Ungarn konnten auf diese Weise ausgebreitete Malariagebiete assaniert werden; aber manchmal können sie nicht vorgenommen werden.

Man kann also den Schlufs daraus ziehen, dafs es kein Mittel und System der hydraulischen Assanierung gibt, das auch unfehlbar die hygienische Assanierung des Ortes herbeiführt. Man füge noch hinzu, dafs es Landstriche gibt, wo Paludismus und Anophelismus herrscht, die ohne jede Assanierung gesünder geworden sind.

Wenn die hydraulische Assanierung aufhört, fängt zwar die agrarische an; aber der Fall ist nicht selten, wo der Landwirt mit Bewässerungskulturen z. B. das gesundheitsfördernde Werk des Ingenieurs aufs Spiel setzt.

Wo die Arbeit des Ingenieurs und Landwirts aufhört, fängt die Arbeit des Arztes und Hygienikers an; der über die prophylaktischen Mafsregeln verfügt: wie Behandlung der Malariakranken in der präepidemischen Zeit oder besser das ganze Jahr hindurch; medikamentöse und mechanische Prophylaxis zur Epidemiezeit.

Endlich sind Sanitätsgesetze gegen Malaria nötig.

Unser Parlament ist mit gutem Beispiel vorangegangen. Am 23. Dezember 1900 ist ein erstes derartiges Gesetz durchgegangen: staatlicher Verkauf des Chinins, um gutes und billiges Chinin in jedem Winkel Italiens zu verkaufen: am 2. November 1901 ein zweites: Chininbehandlung der Arbeiter auf Kosten des Arbeitgebers, obligatorischer Schutz vor dem Eindringen der malariatragenden Stechmücken aller Wohnungen der Arbeiter, die in Malariagegenden direkt oder indirekt für den Staat arbeiten.

Andere Sanitätsgesetze sind notwendig, um die Arbeit an Malariaorten zu regulieren. Bis jetzt haben wir durchgesetzt, dafs die neuen, rationellen prophylaktischen Mafsregeln nach und nach in jedem Übernahmevertrag der Verpachtung der öffentlichen Arbeiten in Malariagegenden verlangt werden.

Ein anderes Gesetz ist nötig, das die Grundbesitzer in Malariagegenden verpflichtet und ihnen anderseits jede Erleichterung gewährt, um Wohnhäuser für die Bauern, wo diese fehlen, zu bauen und Obdachlokale für die nur zeitweise dort lebenden Tagelöhner.

Die neuen prophylaktischen Maſsregeln gegen Malaria müssen allgemein verbreitet werden und in die Sitten und Gebräuche des Volkes übergehen, ohne die keine Prophylaxis nützt, am allerwenigsten aber die gegen Malaria, die so viel von der individuellen Einsicht und Vorsicht verlangt.

Unser Land von der Malaria zu befreien, ist eine viel schwierigere Aufgabe, als es manchem dünken mag. Nach 3jährigem, gründlichem und vom Glück begünstigten Studium kann ich zum Schluſs dieser Arbeit aber nur das wiederholen, was ich zum erstenmale aussprach, als ich das vollkommene Programm der Malariaprophylaxis aufstellte: Unum facere et Alterum non omittere.

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

VIERUNDVIERZIGSTER BAND. 4. HEFT.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1902.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Experimentelle Beiträge zur Lehre von dem täglichen Nahrungsbedarf des Menschen unter besonderer Berücksichtigung der notwendigen Eiweifsmenge. (Selbstversuche.) Von Dr. med. et phil. R. O. Neumann, Privatdozent, I. Assistent am hygienischen Institut Kiel.

Untersuchungen über die hygienische Bedeutung des Zinns, insbesondere in Konserven. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann. (Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Einsendungen beliebe man an **Prof. Rubner, Berlin C., Klosterstr. 36,** *zu richten.*

Untersuchungen über die baktericide Wirkung des Äthylalkohols.

Von

Dr. med. **J. Weigl**,

München.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität München.)

Die Frage, ob der Äthylalkohol eine baktericide Wirkung entfalte oder nicht, hat in den letzten Decennien eine ganze Reihe von Untersuchungen veranlafst; nach den überraschenden Resultaten von Robert Koch[1]) nämlich schien es fast, als ob die Rolle des Äthylalkohols als eines Desinfektionsmittels für immer ausgespielt sei. Koch hatte gefunden, dafs Karbolsäure in Öl oder Äthylalkohol gelöst, keine desinfizierende Wirkung äufserte. »Sämtliche Proben zeigen auf Nährgelatine eine ganz ungehinderte Entwicklung« (a. a. O. S. 250). Auf Grund weiterer Untersuchungen kam sodann Koch zu dem Befunde, dafs Milzbrandsporen, selbst nach monatelangem Verweilen in absolutem oder verdünntem Alkohol, nicht zum Absterben gebracht werden konnten; er stellte ferner fest, dafs überhaupt Antiseptica, welche in wässerigen Lösungen gut wirkten, in alkoholischen nicht desinfizierend wirkten. Demgegenüber war nun Fürbringer[2]) der erste, welcher dem Alkohol in der Desinfektion der Hände etc.

1) Robert Koch, Über Desinfektion. Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, 1. Bd. 1881, S. 234 ff.

2) Fürbringer, Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfektion der Hände u. s. w. Wiesbaden, 1888.

wieder einen Platz eingeräumt wissen wollte. Er wies besonders auf die entfettende Wirkung hin, welche der Alkohol auf die Haut ausübt, und durch welche den nach dem Alkohol angewendeten antiseptischen Substanzen das Eindringen auf die Haut leichter möglich gemacht werde.

Reinicke[1]) bestätigte diese entfettende Wirkung des Alkohols und gab an, daſs zugleich mit dem vom Alkohol gelösten Hautfette auch die Bakterien leichter von der Haut abgespült werden könnten. Noch entschiedener hat in einer Reihe von Publikationen über Versuche in groſsem Maſsstabe Ahlfeld[2]) die Desinfektion mit Alkohol befürwortet; er hat bereits die zwei Kardinalpunkte, welche nach den Ergebnissen späterer Versuche von anderer Seite Bestätigung fanden, festgestellt: erstens, daſs der Äthylalkohol als chemischer Körper an sich eine gewisse baktericide Wirkung besitze; zweitens, daſs es bei der Desinfektionswirkung desselben darauf ankomme, welcher Wassergehalt den Keimen selbst anhaftet. Nur feuchtgehaltene Keime wurden in Ahlfelds Versuchen vom Alkohol abgetötet, indes ihm trockene widerstanden. Diese Resultate hat Ahlfeld gegenüber den gegenteiligen Äuſserungen von Charles Leedham Green u. a.[3]) aufrecht erhalten. Seine Anschauungen über die baktericide Wirkung des Äthylalkohols teilt u. a. auch Adolf Schmitt[4]). In einer umfassenden Arbeit hat sodann Epstein[5]) zur Frage der Alkoholdesinfektion Stellung genommen. Er kam zu dem Resultate, daſs die Desinfektionskraft des Alkohols zunehme bei dessen fallender Konzentration bis zu etwa 50 % herab; daſs aber bei weiterer Verdünnung wieder eine Abnahme der Desinfektions-

1) Reinicke, Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. Centralbl. f. Gynäkologie 1894, S. 1189. — Archiv f. Gynäkologie 1895, S. 515.

2) Ahlfeld, Die Desinfektion des Fingers etc. Deutsche Med. Wochenschrift 1895, Nr. 51 und 1896 Nr. 6, Nr. 23.

3) Auf die zahlreichen Versuche über Desinfektion der Haut konnte hier nicht weiter Bezug genommen werden.

4) Adolf Schmitt, Chirurgische Mitteilungen f. d. Praxis. Münchener Med. Wochenschr. 1896, S. 566.

5) Epstein, Zur Frage der Alkoholdesinfektion. Zeitschr. f. Hyg. XXIV, S. 1 ff.

wirkung eintrete. Jedoch sei auch die desinfizierende Kraft des 50 proz. Alkohols eine recht schwache; überhaupt keine desinfizierende Wirkung zeige der 80 proz. und höher konzentrierte Alkohol. Diesen Angaben Epsteins schliefst sich Minervini[1]) an, welcher auch noch hinzufügt, dafs Alkohol bei normaler Temperatur wohl die vegetativen Keime zerstören könne, nicht aber die Sporen; sodann fand Minervini, dafs Alkohol in den Konzentrationen von 50—70 % viel kräftiger wirke als in höheren oder geringeren, geradezu minimal in der Form des absoluten Alkohols. Die Wertigkeit des Alkohols an sich als baktericides Mittel ist nach Minervini sehr gering anzuschlagen. Zu ähnlichen Feststellungen kam Bertarelli[2]). Er sagt, der Äthylalkohol habe fast gar keinen baktericiden Wert. Noch am besten wirke derselbe in 50 proz., schon weniger in 70- und 25 proz. Lösung. Fast unwirksam sei er in 80- und 99 proz. Konzentration. Bertarelli nimmt an, dafs konzentriertere Alkohollösungen bei Berührung mit Bakterienmassen wahrscheinlich eine Gerinnung der äufseren Keime bewirkten, wodurch dann die im Innern liegenden vor dem Alkohol geschützt würden. W. v. Brunn[3]) prüfte die baktericide Wirkung von Alkoholdämpfen und fand, dafs Konzentrationen zwischen 75 und 50 % wirksam waren; 95 proz. Alkohol erwies sich bei diesen Versuchen unwirksam; unter 50 % verringerte sich deutlich die baktericide Kraft. In einer ausgedehnten Reihe von Versuchen stellten Salzwedel und Elsner[4]) fest, dafs dem Äthylalkohol eine baktericide Wirkung zukomme und zwar angetrockneten Bakterien gegenüber am sichersten in der Konzentration von 55 %. Die Wirkung einer solchen Alkohollösung war zwar schwächer als die einer 1 ‰ wässerigen Sublimatlösung, aber mindestens gleichwertig der

1) Minervini, Über die baktericide Wirkung des Alkohols. Zeitschr. f. Hyg. XXIX, S. 117 ff.

2) Bertarelli, Potere battericida dell alcool etilico. Policlinico 7, S. 486. Cit. nach Malys Jahrbücher 1900.

3) W. v. Brunn, Alkoholdämpfe als Desinfektionsmittel. Centralbl. f. Bakteriologie XXVIII, S. 309.

4) Salzwedel u. Elsner, Über die Wertigkeit des Alhohols als Desinfektionsmittel. Berliner Klin. Woch. 1900 Nr. 23.

Wirkung einer 3proz. wässerigen Karbollösung. Wenn im Versuche die Bakterien mit einer künstlichen Fetthülle bedeckt wurden, so wirkte der Alkohol nur so lange bactericid, als diese Fetthülle noch feucht war; sowie aber diese auch nur leicht angetrocknet war, so erschien das Eindringen des Alkohols und auch anderer Desinfektionsmittel in die Bakterien unmöglich gemacht. Der absolute Alkohol zeigte gegen trockene Bakterien keinerlei Wirkung; dagegen aber wurden von demselben feuchte Bakterien schon nach 6—8 Min. bei normaler Temperatur abgetötet. Es spielt also nach diesen Versuchen bei der baktericiden Wirkung des Alkohols der Wassergehalt eine grofse Rolle, sowohl wenn das Wasser an den Bakterien haftet, als auch wenn es gleichzeitig mit dem Alkohol an die Bakterien herangeführt wird.

In einer neuesten Versuchsreihe hat H. Buchner[1]) dargethan, dafs die desinfizierende Wirkung des Äthylalkohols eine geringe sei und jedenfalls gegen die anderer Alkohole zurückstehe. Betreffs der Spiritusverbände sei die Wirkung so zu erklären, dafs der Körper durch sie zur Entfaltung seiner natürlichen Schutzeinrichtungen zur Abwehr des Infektionsprozesses angeregt werde.

Es ist nach den Versuchen von Ahlfeld, Salzwedel-Elsner u. a. sehr wenig Wasser erforderlich, um die desinfizierende Wirkung des Alkohols in Erscheinung treten zu lassen; denn dieselbe macht sich schon geltend, wenn die Keime nur feucht sind. Deswegen erscheint es von vornherein als unwahrscheinlich, dafs der 80- und 90proz. Alkohol nur deshalb schlechter als der 50proz. auf die Bakterien wirkten, weil deren Wassergehalt ein zu geringer sei. Man mufste vielmehr daran denken, dafs gerade die stärker fällende Wirkung des höher prozentigen Alkohols, welche stets in Salz- und Eiweifslösungen hervortritt, hier ein Hindernis bilde für die desinfizierende Wirkung dadurch, dafs sogleich nach dem Eindringen des Alkohols, um die Bakterien, welche ja, selbst wenn sie aus Kulturen abgenommen

1) H. Buchner, F. Fuchs u. L. Megele, Wirkungen von Methyl-, Äthyl-, Propylalkohol etc. Archiv f. Hyg. XL, S. 347.

wurden, stets von Resten des Nährbodens umgeben sind, Hüllen von gefälltem Eiweifs oder Salz gebildet werden. So könnte durch diese Schutzhüllen, ähnlich wie durch die Fetthüllen in den Versuchen von Salzwedel und Elsner, das weitere Eindringen des 80-, 90- und höher proz. Alkohols in den Bakterienleib verhindert werden.

Es galt also, die Bildung dieser Schutzhüllen zu verhüten. Dies schien am ehesten möglich, wenn man die Alkohollösung nur allmählich durch tropfenweise Zugabe des Alkohols herstellt und gleichzeitig durch ständiges Schütteln gleichmäfsig verteilt. In dieser Weise wurden die Versuche I und II ausgeführt.

Von einer Agarstrichkultur wurde eine Bouillonkultur angelegt, diese zwei Tage im Brutschrank bei 37° aufbewahrt und dann in sterile Röhrchen verteilt. Dazu wurde sodann absoluter Alkohol gegeben, jeweils in der Menge, welche notwendig war, um die gewünschte Alkoholkonzentration zu erhalten.

Der Zusatz des Alkohols geschah auf folgende, zweifache Weise:

a) Mit Schütteln: Der Alkohol wurde aus einer Bürette tropfenweise unter beständigem Schütteln der Bouillon innerhalb 5 Minuten zugesetzt, dann die entstandene Mischung des weiteren 5 Minuten geschüttelt. Ferner wurden die Röhrchen während der ganzen Versuchsdauer bei 37° im Schüttelapparate aufbewahrt, wobei sie gegen die Verdunstung von Alkohol durch Verschlufs mit Gummikappen geschützt waren.

b) Ohne Schütteln. Der Alkohol wurde auf einmal der Bouillon zugesetzt, die entstandene Mischung durch leichte Drehbewegungen gleichmäfsig verteilt; dann wurden die Röhrchen, in gleicher Weise wie die unter a) gegen die Verdunstung von Alkohol geschützt, bei 37° im gewöhnlichen Thermostaten aufbewahrt.

Von vornherein zeigte sich zwischen den Röhrchen mit und ohne Schütteln ganz deutlich der auffallende Unterschied, dafs in den nichtgeschüttelten grofse dichte Fällungen von balligem Aussehen sich bildeten, dagegen in den geschüttelten die Fällungen lockere, krümelige Gerinnsel darstellten.

Von den sämtlichen Röhrchen wurden in den in den Tabellen angegebenen Zeiträumen Proben von je 0,25 ccm mittels steriler Pipetten entnommen und in je 20 ccm frischer Bouillon eingegeben. Steril gebliebene Röhrchen sind mit »—«, solche, in denen durch das Wachstum der Bakterien Trübung entstand, mit »+« bezeichnet. Durch Gelatineplatten wurde immer kontrolliert, ob die vorhandene Trübung der Bouillon infolge von Bakterienwachstum oder lediglich durch Niederschläge verursacht waren.

I. Cholerabouillon.

Von Vibrio Cholerae (Bombay, Sammlung).

Alkohol		Nach $^1/_4$ Stunden	$^1/_2$	1	5	24
1. 80 %	a)	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—
2. 90 »	a)	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—

Mit Schütteln wirkten also sowohl der 80- wie der 90 proz. Alkohol ziemlich rasch abtötend auf die Vibrionen. Ganz erheblich verzögerte sich dagegen die Wirkung beider Konzentrationen bei Nichtschütteln, da noch nach 1 Stunde Wachstum deutlich vorhanden war. Um nun hier den Zeitpunkt der Abtötung näher zu bestimmen, wurde der Versuch in folgender Weise wiederholt:

Alkohol		Nach $^1/_4$ Stunden	$^1/_2$	1	2	3	4	5	24
1. 80 %	a)	+	—	—	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—	—
2. 90 »	a)	+	—	—	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—	—

Während in diesem Versuche die Reihen mit Schütteln die gleichen Resultate ergaben wie im vorigen, zeigt sich, daſs bei

Nichtschütteln die Wirksamkeit des 90 proz. Alkohols nicht unerheblich verzögert wurde. Die Wiederholung des Versuches zur Kontrolle dieses Befundes ergab ganz das gleiche Resultat.

II. Staphylokokkenbouillon.

Aus frischem Eiter wurde eine Reinkultur des Staphylococcus pyogenes aureus gewonnen. Von der 24 Stunden bei 37° gewachsenen Agarstrichkultur wurde die Bouillonkultur angelegt.

Alkohol		Nach 1/4 Stunden	1/2	1	2	5	24
1. 80 %	a)	+	+	+	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—
2. 90 »	a)	+	+	+	+	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—

Zur näheren Bestimmung der Abtötungszeiten wurde der Versuch in folgender Weise ausgeführt:

Alkohol		Nach 1/4 Stunden	1/2	1	2	3	4	5	24
1. 80 %	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	+	—	—	—
2. 90 »	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	+	+	—	—

Der Staphylococcus zeigte somit eine erheblich gröſsere Widerstandsfähigkeit gegen die Alkoholwirkung als der Choleravibrio. Die Wirksamkeit des 90 proz. Alkohols war mit und ohne Schütteln schwächer als die des 80 proz. mit und ohne Schütteln. Immerhin aber war der 90 proz. mit Schütteln wirksamer als der 80 proz. ohne Schütteln.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht, wie die verschiedenen Alkoholkonzentrationen gegen den Staphylococcus sich verhielten.

Alkohol			Nach 1/4	1/2	1	2	3	4	5	24 Stunden
1.	25 %	a)	+	+	+	+	+	+	+	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	50 »	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	—
3.	60 »	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	—
4.	70 »	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	—
5.	80 »	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	—
6.	90 »	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	+	+	—
7.	96 »	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	99 »	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+

Es wirkten also gar nicht der 25 proz. Alkohol ohne Schütteln, ferner der 96- und 99 proz. mit und ohne Schütteln; die letzteren erzeugten in der Bouillon sofort Klumpen von gefälltem Material, die eben für den Alkohol als undurchdringlich sich zeigten und die Kokken konservierten. Am raschesten trat die Abtötung ein bei dem 70- und 80 proz. Alkohol mit Schütteln. Der 50-, 60- und 90 proz. zeigten mit Schütteln gleiche Wirksamkeit. Nichtschütteln verzögerte durchwegs die Wirksamkeit der betreffenden Konzentration und bewirkte auch keine Differenzen zwischen den verschiedenen Konzentrationen.

Trotz sorgfältigen Schüttelns liefs sich bei vielen Versuchen mit Bouillon nicht verhindern, dafs immerhin ziemlich reichliche Niederschläge entstanden, welche vermutlich einen Teil der Bakterien gegen die Wirksamkeit des Alkohols immer noch schützten und so dessen Desinfektionskraft verringerten. Deshalb wurden alle weiter beschriebenen Versuche mit infizierten Seidenfäden ausgeführt. Nach dem Beispiele von Minervini und anderen wurden 2 cm lange Fäden von Rohseide entfettet, sterilisiert und mit Eiter oder Staphylokokkenbouillon stark

imprägniert. Je nach der Versuchsanordnung wurden sodann diese Bakterienfäden trocken oder feucht oder wieder angefeuchtet mit und ohne Schütteln in die Alkohollösungen, welche durch Mischung von absolutem Alkohol mit sterilem Wasser hergestellt waren, eingelegt:

a) Reihe: Die Fäden wurden in den Alkohollösungen 5 Minuten lang geschüttelt, dann ohne Schütteln während der ganzen Beobachtungszeit bei 37° aufbewahrt.

b) Reihe: Die Fäden wurden in die Alkohollösungen ohne Schütteln eingelegt und bei 37° aufbewahrt.

c) Reihe: Die Fäden wurden in den Alkohollösungen zunächst 5 Minuten lang geschüttelt, dann während der ganzen Versuchsdauer bei 37° im Schüttelapparat aufbewahrt.

Sämtliche Röhrchen wurden gegen die Verdunstung von Alkohol durch Gummikappen geschützt.

Mittels Plattenkontrolle wurde festgestellt, dafs die Absprengung von Keimen beim längeren oder kürzeren Schütteln der Fäden jedenfalls keine entscheidende Rolle spielt.

Ferner wurden bei jedem Versuche Bakterienfäden, welche nicht mit Alkohol in Berührung gebracht worden waren, zur Kontrolle des Bakterienwachstums mit und ohne Schütteln in Bouillon eingelegt.

III. Trockene Staphylokokkenfäden.

Zur Infizierung wurde der Staphylokokkenstamm von Versuch II verwendet.

Alkohol			Nach							
			5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.	3 Tagen
1.	25 %	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	50 »	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	—	—	—

Alkohol			Nach 5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.	3 Tagen
3.	60 %	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	—	—	—
4.	70 ›	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	—	—	—	—
5.	80 ›	a)	+	+	—	—	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	—	—	—	—
6.	90 ›	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	—	—	—	—
7	96 ›	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	99 ›	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+

Ganz unwirksam erwiesen sich also mit und ohne Schütteln der 99-, 96- und 25proz. Alkohol. Die prompteste Wirkung zeigte der 80proz. mit Schütteln, der schon in ½ Stunde alle Kokken abgetötet hatte. Langsamer trat die Desinfektionswirkung ein bei dem 70- und 90proz. mit Schütteln, während der 50- und 60proz. mit Schütteln nicht besser wirkten als der 70-, 80- und 90proz. ohne Schütteln.

IV. Trockene Staphylokokkenfäden.

Verwendet wurde dazu ein neuer Stamm, ebenfalls aus frischem Eiter gezüchtet.

Alkohol			Nach 5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.	3 Tagen
1.	25 %	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
		b)	+	+	+	+	+	+	+	+
		c)	+	+	+	+	+	+	—	—
2.	50 ›	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	—	—	—
		c)	+	+	+	—	—	—	—	—
3.	60 ›	a)	+	+	+	+	—	—	—	—
		b)	+	+	+	+	+	—	—	—
		c)	+	+	+	—	—	—	—	—

Alkohol		Nach 5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.	3 Tagen
4. 70 %	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—	—
	c)	+	+	—	—	—	—	—	—
5. 80 »	a)	+	+	—	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—	—
	c)	+	+	—	—	—	—	—	—
6. 90 »	a)	+	+	+	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—	—
	c)	+	+	—	—	—	—	—	—
7. 96 »	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+	+	+	+
8. 99 »	a)	+	+	+	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+	+	+	+

Das längere Schütteln der c-Reihe hat also bei dem 50-60-, 70- und 90proz. Alkohol die Wirksamkeit erhöht, und selbst bei dem 25proz. nach 24 Stunden noch Abtötung erzielt. Dagegen konnten der 99- und 96proz. Alkohol auch bei dieser Versuchsanordnung nicht abtöten. Der 70- und 90proz. wirkten bei ständigem Schütteln so gut wie der 80proz., dessen Wirksamkeit die gleiche blieb bei ständigem wie bei nur 5 Minuten langem Schütteln.

Zum Vergleiche der baktericiden Wirkung des Alkohols mit den gewöhnlichen Desinfektionsmitteln Sublimat und Karbol wurde folgender Versuch ausgeführt.

V. Trockene Staphylokokkenfäden.

Stamm wie in Versuch IV.

Die 1 ‰ Sublimatlösung wie die 3proz. Karbollösung wurden frisch hergestellt.

Lösung		Nach 10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.
1. 1 ‰ S.	a)	—	—	—	—	—	—	—
	b)	—	—	—	—	—	—	—

Lösung		Nach 10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	24 Std.
2. 3 % K.	a)	+	+	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—
3. 50 » Alk.	a)	+	+	+	+	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—
4. 60 » »	a)	+	+	+	+	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—
5. 70 » »	a)	+	+	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—
6. 80 » »	a)	+	+	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—
7. 90 » »	a)	+	+	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	+	—	—	—
8. 96 » »	a)	+	+	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+	+	+

Der 70 proz. Alkohol hat demnach so stark gewirkt wie die 3 proz. Karbollösung, der 80 proz. hat die Wirkung der Karbollösung übertroffen.

VI. Feuchte Staphylokokkenfäden.

Die Fäden wurden nach 24 stündigem Aufbewahren in der Staphylokokkenbouillon bei 37° herausgenommen und in die Alkohollösungen, in die 1 ‰ Sublimat- und 3 proz. Karbollösung verteilt. Die Kontrollfäden trübten stark die Bouillon-Kontrollröhrchen.

Lösung		Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
1. 1 ‰ S.	a)	—	—	—	—	—	—
	b)	—	—	—	—	—	—
2. 3 % K.	a)	+	—	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—	—
3. 50 » Alk.	a)	+	—	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—	—
4. 60 » »	a)	+	—	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—	—

Lösung	Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
5. 70 % Alk. a)	+	—	—	—	—	—
b)	+	—	—	—	—	—
6. 80 » » a)	+	—	—	—	—	—
b)	+	—	—	—	—	—
7. 90 » » a)	+	—	—	—	—	—
b)	+	—	—	—	—	—
8. 96 » » a)	+	—	—	—	—	—
b)	+	—	—	—	—	—
9. 99 » » a)	+	—	—	—	—	—
b)	+	—	—	—	—	—

Hier hatten also sämtliche Alkohollösungen schon innerhalb 10 Minuten alle Keime abgetötet; ein Unterschied zwischen den Reihen mit und jenen ohne Schütteln ergab sich nicht. Die Karbollösung wirkte nicht besser als die Alkohollösungen; nur das Sublimat hatte schon innerhalb 5 Minuten vollständige Abtötung bewirkt.

Eine Wiederholung des Versuches bestätigte das Resultat.

VII. Verhalten trockener Staphylokokkenfäden gegenüber offizinellen und sauren Alkohollösungen.

Geprüft wurde das Verhalten von Spiritus dilutus (welcher einem 60proz. Alkohol entspricht), Spiritus saponatus (ein 50proz. alkalischer Alkohol), Franzbranntwein mit Salz (50proz. Alkohol mit 3 % Chlornatrium), sauerer 80proz. Alkohol (die Ansäuerung erfolgte durch zwei Tropfen H Cl auf 20 ccm Alkohol). Zum Vergleiche wurden, wie in den früheren Versuchen, Alkohollösungen, von absolutem Alkohol mit sterilem Wasser hergestellt, verwendet.

Alkohol	Nach 5 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	6 Std.
1. 50 % a)	+	+	+	+	—	—	—
b)	+	+	+	+	+	—	—

Alkohol		Nach						
		5 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	6 Std.
*) 2. Spir. sapon.	a)	+ [1]	+ [2]	—	—	—	—	—
	b)	+ [3]	+ [4]	—	—	—	—	—
3. Franzbr. m. Salz	a)	+	+	+	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—
4. Spir. dilut.	a)	+	+	+	+	—	—	—
	b)	+	+	+	+	+	—	—
5. 80 %	a)	+	+	—	—	—	—	—
	b)	+	+	+	—	—	—	—
6. 80 » sauer	a)	+	—	—	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—	—	—

Während der 50 proz. Alkohol und der 60 proz. Spiritus dilutus dieselbe Wirksamkeit zeigten, wie in den früheren Versuchen die gleichen Lösungen, zeigt sich bei dem 50 proz. alkalischen Spiritus saponatus eine ganz bedeutend erhöhte Wirksamkeit. Auch der Franzbranntwein mit Salz wirkte noch besser als der einfache 50 proz. Alkohol. Ferner steigerte bei dem 80 proz. Alkohol die Ansäuerung dessen baktericide Wirksamkeit ganz erheblich, ein Resultat, das mit den Versuchen von Salzwedel und Elsner in Einklang steht.

VIII. Trockene Staphylokokkenfäden wieder angefeuchtet.

Von den trockenen Fäden wurde eine Partie in gewöhnliches Wasser von 55° (W), eine andere in Seifenwasser von gleicher Temperatur (S) je 1 Minute lang eingelegt. Von den so angefeuchteten Fäden wurden zur Kontrolle einige in Bouillon gegeben; diese zeigten reichliches Wachstum; diejenigen aber, welche der Alkoholeinwirkung ausgesetzt wurden, ergaben folgenden Befund:

*) Sämtliche Röhrchen mit den Fäden zeigten leichte Trübungen; durch Platten wurden die Koloniezahlen für 0,25 ccm der Mischung festgestellt.

1) 2900.

2) 500.

3) 3900.

4) 1750; alle anderen Platten blieben vollkommen keimfrei.

Alkohol			Nach 5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
1. 50 %	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
2. Spir. sapon.	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
3. Franzbr. m. Salz .	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
4. Spir. dil.	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
5. 70 %	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
6. 80 »	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
7. 80 » sauer . . .	W.	a)	—	—	—	—	—
		b)	—	—	—	—	—
	S.	a)	—	—	—	—	—
		b)	—	—	—	—	—
8. 90 »	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
9. 96 »	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
10. 99 »	W.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—
	S.	a)	+	—	—	—	—
		b)	+	—	—	—	—

Sublimat- und Karbollösung zeigten folgende Wirkung:

Alkohol		Nach 5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.
11. 1 ‰ Subl. . . . W.	a)	—	—	—	—	—
	b)	—	—	—	—	—
S.	a)	—	—	—	—	—
	b)	—	—	—	—	—
12. 3 % Karbol . . W.	a)	+	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—
S.	a)	+	—	—	—	—
	b)	+	—	—	—	—

Die angefeuchteten Fäden wurden also in der gleichen Zeit wie die an sich feuchten (im Versuch VI) desinfiziert. Bemerkenswert ist auch hier wieder die starke Wirkung des 80 proz. saueren Alkohols.

Wie ein weiterer Anfeuchtungsversuch zeigte, genügte es, die trockenen Fäden in das gewöhnliche bezw. in Seifenwasser von nur **40°** und nur ½ Minute lang einzutauchen; schon dieser verkürzte Aufenthalt in dem lauwarmen Wasser war hinreichend, um den Fäden die Qualität von feuchten zu geben. Die Resultate waren ganz die gleichen wie die oben dargestellten.

IX. Staphylokokkeneiter-Fäden.

Die präparierten Seidenfäden wurden bei 37° in frischem Staphylokokkeneiter 24 Stunden lang aufbewahrt; nach dieser Zeit herausgenommen, zum Teil getrocknet und unter 5 Minuten langem Schütteln trocken (T), feucht (F) und wieder mit Wasser von 40° 1 Minute lang angefeuchtet (A) in die Alkohollösungen eingelegt. Das Ergebnis war folgendes:

Lösung	Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
1. 50 % . . . T.	+	+	+	+	+	+	—
F.	+	+	—	—	—	—	—
A.	+	+	+	—	—	—	—

Lösung		Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
*) 2. Spir. sapon.	T.	+[1])	+[2])	+[3])	–	–	–	–
	F.	+[4])	–	–	–	–	–	–
	A.	+[5])	+[6])	–	–	–	–	–
3. Franzbr. m. Salz	T.	+	+	+	+	–	–	–
	F.	+	+	–	–	–	–	–
	A	+	+	+	–	–	–	–
4. Spir. dilut. .	T.	+	+	+	+	+	+	–
	F.	+	+	+	–	–	–	–
	A.	+	+	+	–	–	–	–
5. 70 % . . .	T.	+	+	+	–	–	–	–
	F.	+	+	–	–	–	–	–
	A.	+	+	–	–	–	–	–
6. 80 » . . .	T.	+	+	+	–	–	–	–
	F.	+	+	–	–	–	–	–
	A.	+	+	–	–	–	–	–
7. 80 » sauer .	T.	+	+	–	–	–	–	–
	F.	+	–	–	–	–	–	–
	A.	+	–	–	–	–	–	–
8. 90 » . . .	T.	+	+	+	+	–	–	–
	F.	+	+	–	–	–	–	–
	A.	+	+	–	–	–	–	–
9. 96 » . . .	T.	+	+	+	+	+	+	+
	F.	+	+	+	+	–	–	–
	A.	+	+	+	+	–	–	–
10. 99 » . . .	T.	+	+	+	+	+	+	+
	F.	+	+	+	+	–	–	–
	A.	+	+	+	+	–	–	–
11. 1 ‰ Subl. .	T.	+	+	–	–	–	–	–
	F	+	–	–	–	–	–	–
	A.	+	–	–	–	–	–	–
12. 3 % Karb. .	T.	+	+	+	+	–	–	–
	F.	+	+	+	–	–	–	–
	A.	+	+	+	–	–	–	–

Bei sämtlichen Lösungen war also die Desinfektionswirkung merklich verzögert. Der Eiter scheint demnach den Bakterien gewisse Schutzhüllen zu bieten, welchen die Desinfektionsmittel wenigstens einige Zeit widerstehen. Selbst die Sublimatwirkung

*) Kolonien auf Gelatineplatten. — 1) 3200. — 2) 1500. — 3) 300. — 4) 3900. — 5) 5300. — 6) 570; alle anderen steril.

war im Gegensatz zu Versuch VIII und V eine langsamere; die Karbollösung wirkte nicht besser als Franzbranntwein mit Salz und der 90proz. Alkohol gegen trockene und noch schlechter als diese beiden gegen feuchte und angefeuchtete Fäden.

Von den Alkohollösungen wirkten außer dem sehr kräftigen 80proz. saueren am besten Spir. saponatus, der 70- und 80proz. Alkohol. Relativ schlecht zeigen sich die einfache 50proz. Alkohollösung und der Spiritus dilutus in ihrer Wirksamkeit gegen trockene Eiterfäden.

X. Streptokokkeneiter-Fäden.

Die Fäden wurden wie im vorigen Versuche präpariert und der Desinfektion unterworfen.

Lösung		Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
1. 50 % . . .	T.	+	+	+	+	+	—	—
	F.	+	+	—	—	—	—	—
	A.	+	+	—	—	—	—	—
*) 2. Spir. sapon.	T.	+ 1)	+ 2)	+ 3)	—	—	—	—
	F.	+ 4)	—	—	—	—	—	—
	A.	+ 5)	—	—	—	—	—	—
3. Franzbr. m. Salz	T.	+	+	+	+	—	—	—
	F.	+	+	—	—	—	—	—
	A.	+	+	—	—	—	—	—
4. Spir. dilut. .	T.	+	+	+	+	+	—	—
	F.	+	+	—	—	—	—	—
	A.	+	+	—	—	—	—	—
5. 70 % . . .	T.	+	+	+	—	—	—	—
	F.	+	—	—	—	—	—	—
	A.	+	—	—	—	—	—	—
6. 80 » . . .	T.	+	+	+	—	—	—	—
	F.	+	—	—	—	—	—	—
	A.	+	—	—	—	—	—	—
7. 80 » sauer .	T.	+	+	—	—	—	—	—
	F.	+	—	—	—	—	—	—
	A.	+	—	—	—	—	—	—

*) Kolonien auf Gelatineplatten. — 1) 4800. — 2) 1200. — 3) 189. — 4) 6700. — 5) 3350.

Alkohol		Nach 5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.
8. 90 % . . .	T.	+	+	+	+	—	—	—
	F.	+	+	—	—	—	—	—
	A.	+	+	—	—	—	—	—
9. 96 » . . .	T.	+	+	+	+	+	+	+
	F.	+	+	+	+	—	—	—
	A.	+	+	+	+	—	—	—
10. 99 » . . .	T.	+	+	+	+	+	+	+
	F.	+	+	+	+	—	—	—
	A.	+	+	+	+	—	—	—
11. 1 ‰ Subl. .	T.	+	+	—	—	—	—	—
	F.	+	—	—	—	—	—	—
	A.	+	—	—	—	—	—	—
12. 3 % Karbol.	T.	+	+	+	+	—	—	—
	F.	+	+	—	—	—	—	—
	A.	+	+	—	—	—	—	—

Auch in diesem Versuch hat der Eiter die Bakterien verhältnismäfsig geschützt gegen die Desinfektionswirkung. Gegen trockene Fäden wirkten sehr gut Spiritus saponatus, der 70- und 80proz. Alkohol, noch kräftiger der 80proz. sauere, während der 50proz. und der Spiritus dilutus sehr langsam, der 96- und 99proz. gar nicht abtöteten. Die Karbollösung erwies sich minder kräftig als die vier erstgenannten Alkohollösungen. Gegen die feuchten und angefeuchteten Fäden zeigten diese vier Alkohollösungen prompte Wirksamkeit.

Näher erläutert wird die Abtötungszeit durch folgenden Versuch mit feuchten und angefeuchteten Fäden:

Lösung		Nach 5 Min.	7 Min.	10 Min.
1. Spir. saponat.	F.	+	+	—
	A.	+	+	—
2. 70 %	F.	+	+	—
	A.	+	+	—
3. 80 »	F.	+	+	—
	A.	+	+	—

Lösung		Nach 5 Min.	7 Min.	10 Min.
4. 80 % sauer	F.	+	+	—
	A.	+	+	—
5. 1 ‰ Sublimat	F.	+	—	—
	A.	+	—	—

XI. Milzbrandsporen-Fäden.

Diesen gegenüber erwies sich der Äthylalkohol in jeder Konzentration als unwirksam, wobei es gleichgültig war, ob die Fäden trocken, feucht oder angefeuchtet geprüft wurden.

Schlufsfolgerungen:

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dafs der Äthylalkohol entschieden eine baktericide Wirkung auf die vegetativen Formen der Bakterien ausübt. Die von früheren Beobachtern festgestellte Thatsache, dafs der 50—70 proz. Alkohol stärker wirke als der 80 proz., schien gegen die Annahme zu sprechen, dafs wir im Alkohol wirklich ein Desinfektionsmittel vor uns haben; denn es wäre ein absolutes Novum, dafs ein Desinficiens, also ein Zellgift, in höheren Konzentrationen schwächer wirkte als in niederen. Durch die vorliegenden Versuche hat sich nun aber gezeigt, dafs bei einer Abänderung in der Versuchsanordnung auch der 80- und 90 proz. Alkohol eine den niedrigeren Konzentrationen überlegene Wirkung zeigen. Damit ist aber bewiesen, dafs der Alkohol sich den Bakterien gegenüber wie andere Desinfektionsmittel bezüglich der Wirkung höherer Konzentrationen verhält. Jedoch müssen zwei Bedingungen in der Versuchsanordnung erfüllt sein: 1. es mufs ein gewisser Wassergehalt vorhanden sein; 2. die Entstehung von gröberen Niederschlägen mufs thunlichst vermieden werden.

Freilich braucht die Wassermenge nur sehr gering zu sein. Wenn der 99- und 96proz. Alkohol auf trockene bezw. angetrocknete Keime gar nicht wirken, so liegt eben der Grund dafür darin, dafs der zu jeder Desinfektionswirkung nötige Wassergehalt, der vermutlich erst das Eindringen eines Desinficiens in den Bakterienleib möglich macht, mangelt; denn das Desinfektionsresultat der beiden Alkoholkonzentrationen wird sofort ein positives, wenn die Keime nur kurze Zeit in relativ gering temperiertem Wasser befeuchtet wurden.

Was das zweite Moment: die Verhütung der Entstehung von gröberen Niederschlägen, anlangt, wie sie in diesen Versuchen durch Schütteln mit Erfolg verhindert wurden, so war die Desinfektion in den Proben mit Schütteln meist rascher als in jenen ohne Schütteln. Die Verschiedenheit der Desinfektionsresultate zwischen den Versuchen mit bakterienhaltiger Bouillon und jenen mit infizierten Fäden weist darauf hin, dafs schon relativ feine Niederschläge, wie sie in der Bouillon beim Schütteln doch entstehen, eine abmindernde Wirkung auf die Desinfektionskraft der Alkohollösungen ausüben.

Eine Schutzhüllenbildung ist es vermutlich auch, welche in den Versuchen mit Eiterfäden die Alkoholwirkung verzögerte. Der Eiter bildet um die Bakterien natürliche Hüllen, welche zwar nicht so resistent sind, wie die von Salzwedel und Elsner den Bakterien gegebenen Fetthüllen, aber hinreichen, um das Eindringen des Alkohols zu erschweren.

Die baktericide Wirksamkeit des Alkohols wird ferner durch Ansäuerung oder Alkalisierung desselben gesteigert. So wirkten der alkalische Seifenspiritus viel energischer als der einfache 50proz. und der sauere 80proz. Alkohol besser als der einfache 80proz.

Die Desinfektionswirkung des Alkohols ist somit von einer Reihe von Begleitumständen abhängig, namentlich auch von mechanischen Bedingungen, welche beim Entscheid über die Wertigkeit des Alkohols als baktericides Mittel wohl in Betracht gezogen werden müssen, eine Thatsache, welche wieder darauf

hinweist, dafs da, wo es sich um biologische Probleme handelt, die Fragen nicht von einem einseitigen Standpunkte aus, wie etwa nur vom physikalisch-chemischen betrachtet werden dürfen.

Zum Schlusse möchte ich die angenehme Pflicht erfüllen, Herrn Professor Hahn für die Anleitung zu dieser Arbeit, wie für die stets bereitwilligste Erteilung von Aufschlüssen und fördernden Ratschlägen im Laufe der Versuche meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Über die reduzierenden Wirkungen der Bakterien.

Von

Dr. **Eduard Cathcart** und Prof. **Martin Hahn.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität München.)

Die Fähigkeit zahlreicher Bakterienarten, Farbstofflösungen zu reduzieren, ist seit langem bekannt und hat den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gebildet. Da die Litteratur in zwei neuerdings erschienenen Arbeiten ausführlich behandelt und zusammengestellt ist[1], [2], so erscheint es uns überflüssig, hier noch einmal des Näheren darauf einzugehen.

Eine Frage war es, die auch nach den jüngst erschienenen Untersuchungen noch immer als nicht völlig entschieden gelten konnte: Ist die reduzierende Wirkung an die Bakterienzelle selbst gebunden oder wird sie von den Stoffwechselprodukten derselben verursacht? Roszaheghyi, Baginsky, Müller hatten sich für die ursächliche Beziehung der Stoffwechselprodukte zur Reduktion ausgesprochen, während Cahen, Spina, Smith, Rothenberger, Klett der Bakterienzelle selbst die reduzierende Wirkung zuschreiben.

Für die Hefezelle ist es dem Einen von uns (Hahn) gelungen[3], in einwandsfreier Weise den Nachweis zu führen, dafs in der That die Bakterienleibessubstanz eine reduzierende Wirkung auszuüben vermag. Der mit der Buchner-Hahnschen

1) A. Klett, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 33 S. 137.

2) A. Wolff, Baumgartens Arbeiten aus dem pathol. Institut d. Universität Tübingen, 1901.

3) Münchner med. Wochenschr. 1902, S. 595.

Methode aus Hefezellen gewonnene Preſssaft reduziert in frischem Zustande selbst 1 proz. Methylenblaulösung kräftig und da hier nur die Inhaltssubstanzen der Hefezelle in Aktion treten können — das Ausgangsmaterial bildet Preſshefe, die mehrmals vor dem Abpressen gewaschen wird und daher fast frei von Stoffwechselprodukten ist —, so war die Frage nach der Ursache der Reduktion zu gunsten der Bakterienzelle entschieden.

Diese Beobachtungen gelten aber zunächst doch nur für die Hefezelle und legten den Gedanken nahe, auch die reduzierenden Wirkungen der Spaltpilze einer erneuten Prüfung zu unterwerfen. Es sei vorweg bemerkt, daſs es nicht so leicht gelang, wie bei der Hefe, die oben erwähnte Frage durch die Herstellung eines Preſssaftes aus Bakterien zu entscheiden. Gerade die Schwierigkeiten, die sich uns hier entgegenstellten, haben aber den Anlaſs gebildet, die reduzierenden Wirkungen der Bakterien noch einmal unter verschiedenen Versuchsbedingungen, aber mit demselben Indikator näher zu untersuchen.

Namentlich die Untersuchungen Wolffs haben dargelegt, daſs die Bakterien nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Verschiedenheiten in der Reduktion der Farbstoffe zeigen, also ein elektives Verhalten, wie es Ehrlich in seiner grundlegenden Arbeit für das Sauerstoffbedürfnis des Organismus[1]) bereits dargelegt hatte.

Daſs es sich hier um eine enzymartige Wirkung handelt, war namentlich auch durch die Untersuchungen mit dem Hefepreſssaft klargestellt und somit auch die Beschränkung für unsere Studien geboten, die Wirkungen zunächst an einem Substrat, d. h. mit einem Farbstoff zu prüfen, nachdem eben Wolff u. a. gezeigt hatten, daſs die Wirkung der gleichen Bakterienart gegenüber verschiedenen Farbstoffen sich different verhält.

Nach den Angaben früherer Beobachter und den vorausgegangenen Versuchen mit Hefepreſssaft konnte es aber keinem Zweifel unterliegen, daſs hierfür Methylenblau am geeignetsten

1) Berlin, Hirschwald 1885.

erscheinen mufste. Erst kürzlich haben Neisser und Wechsberg[1]) auf die reduzierende Wirkung lebender Zellen gegenüber Methylenblau eine Methode der Bioskopie zu gründen versucht. Wenn auch die Entscheidung, ob eine Zelle noch alle Lebenseigenschaften besitzt oder nicht, jedenfalls nicht für alle Fälle mit Hilfe dieser Methode geführt werden kann (s. unten), so geht auch aus diesen Beobachtungen hervor, dafs das Methylenblau, ein Präparat, das überdies den Vorteil hat, in bestimmten Handelsmarken auch in der Regel gleiche Eigenschaften aufzuweisen und damit Nachprüfungen zu erleichtern, als ein aufserordentlich feines Reagens aufzufassen ist. Jedenfalls haben uns schon wenige Versuche mit Lackmustinktur, indigoschwefelsaurem Natrium, Orceïn, Methylgrün überzeugt, dafs die von uns hauptsächlich benutzten Bakterienarten das Methylenblau weit rascher reduzierten. Hierauf ist bei solchen vergleichenden Versuchen aber grofses Gewicht zu legen. Denn nur mit einem schnell reagierenden Indikator ist es möglich, grofse Serien durchzuarbeiten, die quantitative Vergleiche mit Kulturen von demselben Tage und demselben Nährboden gestatten.

So ergab sich bei Reduktion der gleich starken Suspension von Bact. Coli und Staphylococc. pyogen. aur. in Bouillon:

Tabelle I.

Indikator	Reduktionszeit	
	Staphyloc.	Bakt. coli.
0,5 ccm 1 proz. Lös. v. indigoschwefelsaurem Natron	35 Min.	in 1 Std. schwach
5 Tropfen Lackmustinktur	22 »	desgl.
0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung	50 Sek.	2 Min. 35 Sek.

Aus der vorstehenden Tabelle ist schon ersichtlich, dafs wir als Kriterium für die Stärke der Reduktion die Zeit gewählt haben, in der eine durch Zusatz einer bestimmten Menge Methylenblau dunkelblau gefärbte Bakteriensuspension völlig entfärbt wird. Man könnte auch daran denken, als Faktor die Menge Methylenblau zu wählen, die von einer Suspension in

1) Münchner med. Wochenschr. 1901, S. 1261.

einer bestimmten Zeiteinheit reduziert wird. Aber, wie schon L. Deutsch[1]) hervorhebt, würde man so inkonstante Resultate erhalten, da nach unseren Beobachtungen namentlich gröfsere Mengen Methylenblau leicht Niederschläge in den Suspensionen erzeugen, die auf den Ablauf der Reduktion höchst störend wirken und die Schärfe der Reaktion wesentlich beeinträchtigen. Es ist aber trotzdem nicht unwichtig, bei vergleichenden Untersuchungen durch wiederholten Zusatz von Methylenblau zu den gleichen Suspensionen zu prüfen, bei welcher Menge von Methylenblau eine erhebliche Verlangsamung bezw. Sistierung der Reduktion eintritt, um auf diese Weise ein Urteil 1. über etwaige schädigende Einflüsse des Mediums, in welchem die Bakterien suspendiert sind, 2. der maximalen Reduktionskraft der betreffenden Probe zu gewinnen. Es bleibt zu erklären, weshalb Suspensionen und nicht die von den meisten Autoren, auch noch von Deutsch benutzten Bouillonkulturen hier zur Verwendung kamen. Smith hat schon festgestellt, dafs die Schnelligkeit der Reduktion von der Zahl der Bakterien abhängig sei, und er hatte auch bereits als Erster Suspensionen der Bakterien benutzt. Eine einfache Überlegung mufste zu dem Schlusse führen, dafs für unsere Zwecke Suspensionen der Bakterien den bisher benutzten Bouillonkulturen bei weitem vorzuziehen sind. Denn, wie eingangs erwähnt, wollten wir vor allem nachweisen, dafs und unter welchen Bedingungen die Bakterienleiber imstande sind, die reduzierende Wirkung auszuüben. Da hierzu möglichst gleiche und grofse Mengen von Bakterienzellen benutzt werden mufsten, so erschienen die Bouillonkulturen von vornherein als viel weniger geeignet, wie die Suspensionen abgewogener Mengen von Bakterienreinkultur. Denn 1. die ersteren weisen fast nie, selbst bei gleichem Nährboden und gleicher Züchtungs Zeit und -Temperatur, die gleiche Menge von Keimen auf, 2. machen die Stoffwechselprodukte (Säure- resp. Alkali-Bildung) in verschiedenem Mafse ihren Einflufs auf die Reduktion geltend und deswegen 3. sind stets nur Kulturen von gewissem Alter benutzbar, wodurch 4. der Anzahl der in einer bestimmten Kulturmenge vorhandenen Bakterien

1) Kongrefsbericht, Paris 1900, Abt. f. Bakteriologie.

und damit der Reduktion eine gewisse Grenze gesetzt wird. Die Suspensionen dagegen gestatten, wie weiter gezeigt wird, 1. ein Variieren in Bezug auf die Bakterienmenge innerhalb ziemlich weiter Grenzen und damit 2. die Möglichkeit, die Reaktionszeit durch Benutzung grofser Bakterienmengen bedeutend abzukürzen, was, wie schon erwähnt, für vergleichende Versuche von grofsem Vorteil ist. Es wurden aber zunächst eine gröfsere Reihe von Bakterienarten in Bouillonkulturen durchgeprüft, um auf diese Weise ein Urteil zu gewinnen, welche Arten sich für weitere Versuche vermöge ihres stärkeren Reduktionsvermögens am meisten eigneten.

Tabelle II.

Nr.	Kultur	Alter	Reduktion von 0,5 ccm. $^1/_{10}$ proz. Methylenblaulösung durch 10 ccm Bouillonkultur			
			nicht erhitzt		erhitzt $^1/_2$ Std. auf 60°	
			Min.	Sek.	Min.	Sek.
1	Bac. Coli.	18 Stdn.	5	10	7	40
2	Bac. Typhus . . .	18 »	20	—	s. schwach in $^1/_2$ Std.	
3	Bac. Prodigiosus .	2 Tage	18	30	desgl.	
4	Bac. Fluorescens non liquefac.	2 »	11	—	unvollst. in 1 Std.	
5	Sarcina Alba . . .	2 »	20	40	0 in 1 Std.	
6	Bac. Ramosus . . .	2 »	15	—	—	—
7	Staphylococcus Albus	2 »	7	—	0 in 1 Std.	
8	Bac. Lactis Aërogenes	2 »	7	—	—	—
9	Bac. Subtilis . . .	2 »	s. schwach in 1 Std.		—	—
10	Staphylococcus Aur.	2 »	6	—	16	—
11	Bac. Megatherium .	2 »	5	30	0 in 1 Std.	
12	Bac. Anthracis . .	1 »	7	—	—	—

(Siehe Tabelle III auf S. 300.)

Später haben wir für unsere Untersuchungen fast ausschliefslich Suspensionen aus den oben angeführten Gründen benutzt. Die Oberflächenkulturen wurden auf 3 proz. Fleischwasseragar in Kolleschalen angelegt. Nach 1—2 tägigem Wachstum bei 37° wurden die Bakterienmassen sorgfältig, möglichst ohne Verletzung des Nährbodens und unter Fernhaltung des Kondenswassers, mit einem Platinspatel abgehoben, auf einer Handwage, deren Genauigkeit bis 10 mg ging, in bestimmten Quantitäten abgewogen

und sodann durch inniges Verreiben in dem betreffenden Medium z. B. Bouillon suspendiert. Das Abwägen und die Verreibung erfolgte in tarierten kleinen porzellanenen Farbschälchen mit Ausguſs. Die Suspension wurde dann in Reagensgläser übergeführt. Bei vergleichenden Versuchen müssen Gläser von möglichst gleicher Wandstärke und gleichem Durchmesser gewählt werden. Nachdem die Suspensionen durch etwa $^1/_4$ stündiges Verweilen in zwei ineinandergestellten, mit Wasser gefüllten und erhitzten Bechergläsern auf die gewünschte Temperatur gebracht waren, wurden sie zunächst kräftig durchgeschüttelt, um die feine Suspension wieder herzustellen, dann mit Methylenblau versetzt und mit dem Farbstoff kurz gemischt. Die Zeit von Vollendung der Mischung bis zur Entfärbung im Wasserbade galt als Reduktionszeit. Auf einen Luftabschluſs mit Paraffin. liquid., welcher die Verküpung des Farbstoffes hindert und bei länger dauernden Versuchen von Neisser und Wechsberg, sowie von A. Wolff mit Vorteil benutzt worden ist, konnte in diesen, meist höchstens nur $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde dauernden Versuchen verzichtet werden.

Tabelle III.

Reduktion von 0,5 ccm $^1/_{10}$ proc. Methylenblaulösung durch 10 ccm. 1—2 tägiger Bouillonkultur.

Nr.	Kultur	Reduktionszeit	
		Min.	Sek.
1	Bact. Coli (18 stündlich)	5	10
2	Bac. Typhi ›	20	—
3	Bac. prodigiosus (2 Tage)	18	30
4	Bac. fluoresuns n. liquefac. (2 Tage)	11	—
5	Sarcina alba (2 Tage)	20	40
6	Bac. ramosus (2 Tage)	15	—
7	Staphylococc. albus (2 Tage) . . .	7	—
8	› aureus › . . .	6	—
9	Bac. lact. aerogenes (2 Tage) . .	7	—
10	Bac. subtilis (2 Tage)	schwache Reduktion nach 1 Std.	
11	Bac. Megatherium (2 Tage) . . .	5	30
12	Milzbrandbac. (2 Tage)	7	—
13	Diphtheriebac. ›	8	—

Es galt zunächst zu ermitteln, welche Stärke der Suspension als zweckmäſsigste für vergleichende Versuche zu wählen war.

Es wurden daher verschiedene Quantitäten gleicher Bakterienarten in demselben Medium (10 ccm Bouillon) suspendiert.

Tabelle IV.
Suspension in 10 ccm Bouillon.

Nr.	Kultur	Menge	Methylenblaulösung		Reduktionszeit	
			Quantität	Gehalt	Min.	Sek.
		g	ccm	%		
1	Staphylococcus Aur.	0,2	1,0	$^{1}/_{10}$		30
2	» »	0,4	1,0	$^{1}/_{10}$		15
3	» »	0,6	1,0	$^{1}/_{10}$		12
4	» »	0,8	1,0	$^{1}/_{10}$		12
5	» »	1,0	1,0	$^{1}/_{10}$		10
6	» »	0,2	1,0	1	4	45
7	» »	0,4	1,0	1	1	45
8	» »	0,6	1,0	1	1	25
9	» »	0,8	1,0	1	1	10
10	Bac. Coli	0,2	1,0	$^{1}/_{10}$	2	20
11	» »	0,4	1,0	$^{1}/_{10}$	1	30
12	» »	0,6	1,0	$^{1}/_{10}$	1	25
13	» »	0,8	1,0	$^{1}/_{10}$	1	20
14	Bac. Lactis aerogenes	0,2	1,0	$^{1}/_{10}$	1	10
15	» »	0,4	1,0	$^{1}/_{10}$	—	30
16	» »	0,6	1,0	$^{1}/_{10}$	—	30
17	Bac. Prodigiosus	0,2	1,0	1	7	35
18	» »	0,4	1,0	1	3	45
19	» »	0,6	1,0	1	3	25
20	» »	0,8	1,0	1	3	—
21	Bac. Megatherium	0,2	1,0	1	0 in	$^{1}/_{2}$ St.
22	» »	0,4	1,0	1	17	—
23	Micrococcus Ureae	0,2	1,0	1	8	—
24	» »	0,4	1,0	1	2	10

Wie man aus der obenstehenden Tabelle ersieht, tritt auch hier die Differenz zwischen dem Reduktionsvermögen der verschiedenen Bakterienarten deutlich hervor. Was die verschiedenen Quantitäten anbelangt, so ergibt sich, daſs gröſsere Quantitäten als 0,4 g in 10 ccm Bouillon zweckmäſsig nicht verwendet werden. Denn die zeitliche Beschleunigung der Reduktion, die sich zwischen 0,2 g und 0,4 g noch deutlich bemerkbar macht und sogar teilweise geradezu quantitativ, entsprechend der Bakterienmenge, wie das Smith schon hervorgehoben hat, auftritt,

ist nicht mehr so deutlich erkennbar bei den höheren Werten von 0,6 und 0,8. Hier senkt sich eben ein Teil der Bakterien rasch zu Boden und so verläuft die Reduktion der gesamten Flüssigkeit nicht schneller, als wenn eine kleinere Menge von Bakterien suspendiert wird. Wir haben deshalb in den meisten Fällen 0,2 g zur Herstellung der Suspension verwandt und zwar aus folgenden Gründen.

Einmal wollten wir eine starke und rasch erfolgende Reduktion erzielen, die jedoch für viele vergleichende Versuche auch nicht zu rasch verlaufen durfte, weil sich sonst die Unterschiede in der Zeit überaus klein gestalten und die Beobachtung erschweren. Deswegen wählten wir nicht 0,4 g, sondern 0,2 g. Auf der anderen Seite wollten wir unter die Quantität von 0,2 g nicht heruntergehen, weil Wägefehler, sowie Differenzen in dem Wassergehalt der Kulturen bei gröfseren Quantitäten nicht so stark beeinflussend wirken konnten. Übrigens haben uns spätere Versuche gezeigt, bei denen wir Trockenpräparate von Bakterienmassen herstellten, dafs der Wassergehalt solcher von Agarkulturen gewonnenen Massen nicht so erheblich schwankt, wie man annehmen sollte. Er lag stets zwischen 15 und 25%. Die Wägefehler mögen zwischen 5 und 10% betragen, so dafs sich eine mittlere Fehlergrenze für die Versuche von etwa 10 und 15% ergibt. Dabei ist allerdings immer vorausgesetzt, dafs in der That eine gröfsere Quantität der Bakterien auch die Reduktionszeit entsprechend abkürzt. Darüber kann nach der obigen Tabelle aber für Quantitäten bis 0,4 g pro 10 ccm Bouillon kaum ein Zweifel bestehen.

Die bisher erwähnten Versuche sind sämtlich bei der Temperatur von 37° angestellt. Diese Temperatur wird sich für die Reduktion der schwach wirkenden Bakterien wohl stets als die günstigste erweisen. Anders scheinen sich dagegen so stark reduzierende Bakterien wie die Staphylokokken zu verhalten. (Siehe Tabelle V S. 303.)

Hier wird die Reduktion noch bis 55° hin vermehrt, eine Thatsache, die schwer zu erklären ist. Vielleicht handelt es sich um eine bessere Auslaugung des reduzierenden Ferments aus

den Zellen bei höherer Temperatur. Im übrigen ist es sicher zweckmäfsig, die Reduktionsversuche bei 40° anzustellen, da jedenfalls alle Temperaturen unter 40° eine bedeutende Verlangsamung der Reduktionszeit hervorrufen. Ist die Menge der reduzierend wirkenden Bakterienzellen nur eine geringe, so kann unter Umständen bei 60° schon ein vollkommenes Sistieren der Reduktion erfolgen, wie die Parallelreihe in Tabelle II zeigt, für welche Bouillonkulturen benutzt wurden, die ganz gleichmäfsig angelegt und gezüchtet waren, wie die in der ersten Kolumne aufgeführten.

Tabelle V.
0,2 g Staphyloc. in 10 ccm Bouillon.

Nr.	Temperatur	1% Methylenblaulösg.	Reduktionszeit	
			Min.	Sek.
	Grad	ccm		
1	0	0,5	Schwach in 1 St.	
2	15	0,5	18	—
3	25	0,5	9	40
4a	40	0,5	1	15
4b	40	1,0	4	30
5a	50	0,5	—	30
5b	50	1,0	2	15
6a	55	0,5	—	35
6b	55	1,0	2	5

Von grofsem Einflufs ist auch das Alter der Kultur, die zur Reduktion verwendet wird. Bei Bouillonkulturen steigt natürlich die Reduktion, solange die Vermehrung der Bakterienzellen noch eine erhebliche ist. Nach kurzer Zeit aber sind anscheinend doch schon eine grofse Menge von abgestorbenen Zellen in der Kultur vorhanden, die ihr Reduktionsvermögen verloren haben. Besonders deutlich trat dies in einer Diphtherie-Bouillon hervor. (Siehe Tabelle VI u. VII auf S. 304.)

Wie man sieht, ist die Reduktionsfähigkeit der Diphtheriekultur nach 7 Tagen bereits ganz erheblich herabgesetzt, nach 9 Tagen fast erloschen. Das Wachstums- und Giftbildungsvermögen dieser Kultur war allerdings von vornherein nur ein geringes. Immerhin weisen diese Ergebnisse darauf hin, dafs eine

gewisse Beziehung zwischen dem Reduktionsvermögen und der Giftbildung besteht, die bei vielen Kulturen innerhalb des Zeitraumes von 10—14 Tagen ihren Höhepunkt erreicht. Für die Staphylokokken, die auf Oberflächenkulturen gezüchtet waren, sinkt die Reduktion schon am zweiten Tage etwas herab, um am vierten Tage bereits eine ganz erhebliche Verminderung zu zeigen, ein Ergebnis, das mit den Beobachtungen von Gottschlich und Weigang[1]) im Einklang steht, die ein sehr schnelles Absterben von Bakterien auf Oberflächen-Agarkulturen feststellten.

Tabelle VI.
10 ccm Diphtheriebouillonkultur.

Alter der Kultur	Reduktion von 0,5 ccm $^1/_{10}$ proz. Methylenblaulös.		
Tage	Min.	Sek.	
1	15	—	Schwaches Wachstum
2	8	30	Starkes Wachstum
3	8	30	
4	10	—	
5	14	—	
6	14	30	
7	65	—	
9	0 in 7 St.		

Tabelle VII.
0,4 g Staphylococc. in 10 ccm Bouillon.

Alter der Agarkultur	Reduktion von 1 ccm 1 proz. Methylenblaulös.	
Tage	Min.	Sek.
1	1	30
2	2	15
3	3	5
4	8	30
5	15	—

Nach den Untersuchungen früherer Autoren ist die reduzierende Fähigkeit bei den Anaëroben stets eine stärkere wie

1) Zeitschr. f. Hygiene, 20, S. 376.

bei den aëroben Bakterienarten. Wir konnten für fakultative Anaëroben nachweisen, daſs anaërob gezüchtete Kulturen stärker reduzierend wirken wie aërob gezüchtete Kulturen derselben Bakterienspezies.

Zu diesen Versuchen wurden 10 ccm Bouillonkultur von Staphylokokken und Kolibakterien verwendet, die bei aërober und anaërober Züchtung (nach Buchner) annähernd gleich gutes Wachstum zeigen.

Tabelle VIII.
Reduktion 0,5 ccm 1/10 proz. Methylenblaulösung.

Nr.	Kultur		Reduktionszeit Min.	Sek.
1	Coli	Aërob.	0 in 30 Min. (nicht weiter beobacht.)	
2	Coli	Anaërob.	13	—
3	Staphylococcus Aureus	Aërob.	30	—
4	Staphylococcus Aureus	Anaërob.	17	—

Auſser diesen Bakterienkulturen wurden auch Suspensionen von 0,2 g Koli-Oberflächenkulturen in 10 ccm Bouillon geprüft, die auf je drei Petrischalen aërob bezw. anaërob innerhalb zwei Tagen gewachsen waren.

Tabelle IX.

	Methylenblaulösung 1 ccm 1/10 %	Methylenblaulösung 0,5 ccm 1 %
Coli aërob. gewachsen	1 Min. 45 Sek.	4 Min.
Coli anaërob »	55 Sek.	1 Min. 50 Sek.

In beiden Fällen ergibt sich also das gleiche Resultat, nämlich, daſs anaërob gewachsene Kulturen ein nicht unbeträchtlich höheres Reduktionsvermögen aufweisen. Man könnte denken, daſs durch das aërobe Wachstum thatsächlich eine geringere Menge der reduzierenden Substanz im Bakterienleib gebildet würde, indessen scheint es nach dem folgenden Versuche, bei dem von derselben aërob gewachsenen Kultur je zwei Suspensionen angelegt wurden, deren eine 3 Stunden anaërob bei 37° gehalten, die andere ebenso aërob aufbewahrt wurde, vielmehr

als ob der Luftsauerstoff an sich, wenn er auf feuchtgehaltene Bakterienmassen einwirkt, eine schädigende Wirkung auf das Reduktionsvermögen derselben ausübt. Darauf weisen auch übrigens die Erfahrungen hin, dafs wir bei der Darstellung von Trockenpräparaten aus den Bakterien bezüglich des Einflusses, welchen der Sauerstoff beim Trocknen auf die Reduktionsfähigkeit ausübt, gewonnen haben (s. unten).

Tabelle X.

0,4 g Staphylococc. in 10 ccm Bouillon, reduziert 1 ccm 1 proz. Methylenblaulös.

1. nach 3 Stdn. aërob.	3 Min.
2. » » » anaërob.	1 Min. 50 Sek.

Man hätte annehmen können, dafs das Licht, sei es in Form des diffusen oder direkten Sonnenlichts einen Einflufs auf die Reduktion äufsern könnte. Während man für den Ablauf der Reduktion selbst, also für die Entfärbung des Farbstoffes, eine begünstigende Wirkung des Sonnenlichtes annehmen könnte, müfste man die Wirkung des Sonnenlichtes auf die Bakterienzellen schon als eine schädigende supponieren mit Rücksicht auf die Erfahrungen, welche bezüglich der Entwicklungshemmung und Abtötung von Bakterien durch das Licht gewonnen wurden. Die wenigen Versuche, die wir nach dieser Richtung hin unternommen haben, liefsen aber eine Wirkung des Lichtes weder nach der einen noch nach der anderen Richtung hin erkennen. Es machte keinen Unterschied, ob die Reduktion im direkten Sonnenlicht, oder bei ganz schwacher künstlicher Beleuchtung in der Dunkelkammer vorgenommen wurde und mehrstündiger Aufenthalt von Bakterien-Suspensionen im direkten Sonnenlicht hatte keine Herabsetzung der Reduktion im Vergleiche mit einer dunkel gehaltenen Probe zur Folge.

Tabelle XI.

Suspension 0,4 ccm. Staphyl. in 10 ccm Bouillon	Reduktion v. 1 proz. Methylenblaulösung	
	0,5 ccm	1 ccm
im Licht gehalten	1 Min. 30 Sek.	3 Min. 20 Sek.
im Dunklen »	2 Min. — Sek.	3 Min. 40 Sek.

Schon in unseren ersten Versuchen konnten wir feststellen, dafs das Medium, in welchem die Bakterien suspendiert sind, von einem wesentlichen Einflufs auf die Schnelligkeit des Ablaufes der Reduktion sind. Namentlich zeigte sich sehr bald nach dieser Richtung eine bedeutende Differenz, je nachdem die Bakterien in Bouillon oder in Wasser suspendiert waren.

Tabelle XII.

0,2 g Kultur in 10 ccm Flüssigkeit reduzieren 0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung.

Medium	Staphylococc.	Bact. Coli	V. Cholera
destill. Wasser . . .	6 Min. 30 Sek.	in 30 Min. schwach	—
Bouillon	1 › 5 ›	3 Min.	2 Min. 30 Sek.
0,75 proz. Na Cl-Lösung	7 › 20 ›	in 30 Min. schwach	nicht in $^1/_2$ Std.
9 ccm Bouillon + 1 ccm $^1/_{10}$ N = NaOH . .	1 › — ›	1 Min. 55 Sek.	—
9 ccm Bouillon + 1 ccm $^1/_{10}$ N = H_2SO_4 . .	2 › 45 ›	4 › 15 ›	—

Hier könnte vor allen Dingen die Reaktion und der Salzgehalt der Bouillon in Betracht kommen. Wie aus obiger Tabelle ersichtlich, suchten wir zu ermitteln, ob die alkalische Reaktion eine wesentliche Rolle für die Reduktion spielt. Es zeigt sich in der That, dafs die stärker alkalische Reaktion der Bouillon jedenfalls eher begünstigend auf den Verlauf der Reduktion wirkt, während eine saure Reaktion den entgegengesetzten Einflufs äufsert. Die Vermutung, dafs etwa osmotische Verhältnisse für die Schnelligkeit der Reduktion in Betracht kommen, hat sich insofern nicht bestätigt, als physiologische Kochsalzlösung sich im wesentlichen nicht als geeigneter für die Reduktion erwies, wie destilliertes Wasser (s. Tab. Nr. XII). Nur insofern zeigte sich ein Einflufs des Salzgehaltes im Medium, als in dialysierter Bouillon die Reduktion langsamer erfolgte wie in nicht dialysierter und anderseits der Salzzusatz zur dialysierten Bouillon eher etwas begünstigend auf die Reduktion einwirkte. (Siehe Tabelle XIII S. 308.)

Später stellte sich immer klarer heraus, dafs nur in Gegenwart von stickstoffhaltigen Körpern der Salzgehalt wirklich von

Bedeutung war. Indessen ist sein Einflufs auch hier nur ein recht geringer. In der dialysierten Bouillon vollzog sich die Reduktion allerdings langsamer. Der Salzzusatz hat eine beschleunigende Wirkung, aber weder der Zusatz von Kochsalz, noch der von Dinatriumphosphat gleicht die Wirkung der Dialyse vollkommen aus. Die schon von Petruschky erwähnte Thatsache, dafs ein gewisser Eiweifsgehalt der Nährböden die Reduktionsfähigkeit der Kulturen erhöht, konnten wir in einwandsfreier Weise durch Benutzung der Suspensionen bestätigen (Tab. XIV).

Tabelle XIII.
0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung.

	Staphylococc.	Bact. Coli	V. Cholera
1. 10 ccm Bouillon ohne Pepton	45 Sek.	2 Min. 15 Sek.	2 Min. 30 Sek.
2. wie 1 dialysiert . . .	1 Min. 20 Sek.	3 » 30 »	5 » 10 »
3. » 2 + 0,5 % NaCl .	1 » -- »	2 » 55 »	4 » — »
4. » 3 + 0,2 % Na_2HPO_4	1 » 10 »	2 » 50 »	4 » 10 »

Tabelle XIV.
0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung.

Medium	Staphylococc.	Bact. Coli
10 ccm Bouillon	1 Min. 30 Sek.	3 Min.
10 ccm 0,75 proz. Na Cl-Lösung . . .	unvollst. in 1/2 Std.	0 in 1 Std.
9 ccm Na Cl-Lösung + 1 ccm Kaninchenserum	1 Min. 55 Sek.	3 Min. 45 Sek.
10 ccm. 0,75 proz. Na Cl-Lösung + 0,2 g Ovalbumin	12 Min.	14 Min.
10 ccm 0,75 proz. Na Cl-Lösung + 0,2 g Blutalbumin (nur am Boden Reduktion)	15 Min. 30 Sek.	unvollst. in 1 Std.

Wie ersichtlich, ist es nicht gleichgiltig, welche Art von Eiweifs vorhanden ist. Das Serum zeigt hier eine entschiedene Überlegenheit gegenüber dem Eieralbumin oder dem käuflichen Blutalbumin, das allerdings bei den vorliegenden Versuchen nicht vollständig in Lösung zu bringen war. Mit Rücksicht auf die Biologie der Bakterien und die Rolle, welche ihrer reduzieren-

den Thätigkeit vielleicht für die Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen zukommt, erschien es von Interesse, auch andere stickstoffhaltige Körper in Lösung als Medium für die Suspension zu benutzen und auf diese Weise ihren Einfluſs auf die Reduktion zu ermitteln.

Aus den umstehenden Versuchen (Tab. XV) kann man folgendes entnehmen:

Pepton und Albumosen begünstigen die reduzierenden Wirkungen der Bakterien nicht wesentlich, wenigstens so weit es sich aus den hier benutzten Präparaten schlieſsen läſst, ebensowenig die Amidosäuren. Die Wirkung der Fleischextraktlösungen ist in der Regel die gleiche wie die der Bouillon. Die Anwesenheit des Kreatins im Fleischextrakt ist ohne Belang. Das Kreatin vermag dementsprechend allein auch nicht die Wirkung des Fleischextrakts zu ersetzen.

Wenn die Uschinskysche Nährlösung bezüglich der Reduktion die Bouillon beinahe zu ersetzen vermag, so verdankt sie diese Eigenschaft, wie es scheint, wesentlich ihrem Gehalt an Ammonium lacticum. Wie weitere Versuche zeigten, kann das Ammonium lacticum durch weinsaures Ammon und andere Ammonsalze nach dieser Richtung nicht ohne eine Herabminderung der Reduktionswirkung ersetzt werden. Nach den obigen Versuchen ist der Schluſs gestattet, daſs diejenigen Nährlösungen, wie Bouillon, Fleischextraktlösung, Fränkel-Uschinskysche Nährlösung, die sich im allgemeinen für die Züchtung, also für das Wachstum der Bakterien durch jahrelange Erfahrung als günstig erwiesen haben, auch das beste Medium für die Entwicklung der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien darstellen. Damit ist aber auch sehr wahrscheinlich gemacht, daſs die reduzierende Fähigkeit der Bakterien eine wichtige Rolle bei dem Ernährungs- und Vermehrungs-Prozesse der Bakterien spielt.

Welche stickstoffhaltigen Bestandteile der Bouillon und Fleischextraktlösung es sind, mit denen sich die reduzierende Thätigkeit der Bakterien hier verknüpft, diese Frage ist allerdings durch

Tabelle XV.
0,2 g Kultur reduzieren 0,5 ccm 1proz. Methylenblaulösung.

Medium	Staphylococc.	Bac. Coli	V. Proteus
10 ccm Bouillon . .	1 Min. 30 Sek.	3 Min. 15 Sek.	4 Min. — Sek.
10 ccm Fleischextraktlösung (1%) . . .	1 » 35 »	4 » 20 »	4 » 30 »
10 ccm Fleischextraktlösung (2%), fast frei von Kreatin[1]) . . .	— » 50 »	3 » 20 »	6 » 30 »
10 ccm Kreatinlös. (1%)	5 » 45 »	18 » 30 »	unvollst. in 1 St.
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung	schwach in 1/2 St.	0 in 1 St.	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-lösung + 0,1 g Witte-Pepton	15 Min. — Sek.	45 Min. — Sek.	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung + 0,2 g Ampho-Pepton	5 » 20 »	22 » — »	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung 0,2 g Pepton Grübler	10 » 30 »	schwach in 1 St.	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung + 0,1 g Hetero-Albumose . . .	30 » — »	schwach in 1/2 St.	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung + 0,1 g Deutero-Albumose . . .	19 » 30 »	sehr schwach i. 1/2 St.	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-lösung + 0,1 g Leucin	7 » — »	—	—
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösg. + 0,1 g Tyrosin	17 » 20 »	—	—
10 ccm Bouillon . . .	— » 45 »	2 Min. 10 Sek.	—
10 ccm Bouillon + 0,1 g Harnstoff	1 » 10 »	—	—
10 ccm Bouillon + 0,5 g Harnstoff	— » 50 »	—	—
10 ccm Fränkel-Uschinsky's Nährlösung (ohne Alkali) . . .	1 » 20 »	4 Min. 5 Sek.	—
10 ccm 0,6proz. Ammon.-Lakt.-Lösung . . .	2 » — »	5 » 30 »	—
10 ccm 0,2 proz. Dinatriumphosphat Lösg.	5 » — »	0 in 1/2 St.	—
10 ccm 0,5 proz. NaCl-Lösung	5 » 10 »	0 » 1/2 »	—
10 ccm 0,4 proz. Asparagin-Lösung	9 » — »	15 » 20 Sek.	—

1) Hier wurde die bei der Kreatindarstellung gewonnene Mutterlauge in entsprechender Verdünnung benutzt.

die obigen Versuche auch nicht zur Entscheidung gelangt. Dafs stickstofffreie Bestandteile, wie Traubenzucker, Rohrzucker, Glycerin jedenfalls nicht die Reduktion begünstigen, mögen die folgenden Versuche zeigen.

Tabelle XVI.
0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1proz. Methylenblaulösung.

	Bact. Coli	V. Cholerae
10 ccm Bouillon	2 Min. 20 Sek.	4 Min.
10 ccm Bouillon + 1 proz. Glyc.	3 » 20 »	0 in 1/2 St.
10 ccm Bouillon + 5 proz. Glyc.	3 » — »	25 Min.
10 ccm Bouillon + 10 proz. Glyc.	2 » 30 »	10 Min. 30 Sek.
10 ccm Bouillon + 20 proz. Glyc.	3 » 10 »	—

Tabelle XVII.
0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1proz. Methylenblaulösung.

	Bact. Coli	Staphylococcus
10 ccm Bouillon	2 Min. 10 Sek.	— Min. 50 Sek.
10 ccm Bouillon + 10 proz. Traubenzucker	3 » 10 »	1 » — »
10 ccm H_2O + 10 proz. Traubenzucker .	4 » 30 »	2 » 15 »
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung + 10 proz. Traubenzucker	5 » 20 »	2 » 30 »
10 ccm Bouillon	3 » — »	1 » 30 »
10 ccm Bouillon + 10 proz. Rohrzucker .	4 » 5 »	2 » 30 »
10 ccm H_2O + 10 proz. Rohrzucker . .	0 in 1 St.	25 » — »
10 ccm 0,75 proz. NaCl-Lösung + 10 proz. Rohrzucker	0 in 1 St.	unvollst. in 4 St.

In Übereinstimmung mit den Erfahrungen früherer Untersucher (L. Deutsch) konnten wir feststellen, dafs Antiseptica schon bei verhältnismäfsig kurzer Einwirkung die reduzierenden Eigenschaften von Suspensionen der Bakterien in Bouillon vernichten oder wesentlich herabsetzen. Am wenigsten schädigen noch Chloroform und Toluol, und namentlich das letztere erscheint deshalb geeignet für vergleichende Versuche, in welchen man die reduzierende Thätigkeit prüfen, aber das Wachstum der Bakterien aufheben und gleichzeitig eine höhere Temperatur zur Digestion anwenden will, wodurch die Verwendung eines Antiseptikums von hohem Siedepunkt als zweckmäfsig erscheint.

Das Chinin hat hier in stärkerer Konzentration und bei längerer Einwirkung seine Eigenschaft als Protoplasmagift bewährt.

Tabelle XVIII.

0,2 bezw. 0,4 g Kultur reduzierten 0,5 bezw. 1,0 ccm 1proc. Methylenblaulösung.

	Staphylococc.	B. Coli	V. Cholerae
1. 0,4 in 10 ccm Bouillon nach 3 St. bei 22° .	1 Min. 45 Sek.	—	5 Min. — Sek.
2. wie 1. + 0,01proz. Sublimat	4 › — ›	—	14 › 20 ›
3. wie 1. + 0,02 proz. Sublimat	4 › 20 ›	—	27 › — ›
4. wie 1. + 2 Tropfen Chloroform	3 › 40 ›	—	7 › 30 ›
5. wie 1. + 2 Tropfen Toluol	3 › 30 ›	—	9 › 30 ›
6. 0,2 in 10 ccm Bouillon nach 24 St. bei 22° .	—	3 Min. 40 Sek.	—
7. wie 6. + 0,01 proz. $HgCl_2$	—	4 › 30 ›	—
8. wie 6. + 2 Tropfen Chloroform	—	10 › 15 ›	—
9. wie 6. + 2 Tropfen Toluol	—	12 › — ›	—
10. 0,2 in 10 ccm Bouillon + 0,1 proz. Chin. hydrochlor.	1 Min. 30 Sek.	—	—
11. wie 10. + 1proz. Chin. hydrochlor.	1 › 45 ›	—	—
12. wie 11. nach 24 St. bei 37°	nur schw. Reduktion am Boden	—	—
13. 0,2 in 10 ccm Bouillon nach 24 St. bei 37° .	2 Min. 45 Sek.	—	—

Wie nach dem, was über den Einflufs des Alters der Kulturen ermittelt wurde, verständlich ist, genügt schon ein längerer Aufenthalt der Suspensionen bei 37° ohne Zusatz, um ihre Reduktionsfähigkeit etwas herabzusetzen. Diese Eigenschaft, die übrigens erst nach etwa zweistündiger Digestion schwach hervortritt, also gerade unsere bei 40° angestellten, aber rasch ver-

laufenden Versuche nicht störend beeinflussen konnte, teilen die reduzierenden Stoffe der Bakterienzellen bekanntlich mit allen labilen Körpern (Zymase, Alexine etc.). Anderseits weifs man, dafs gerade einige Salze und auch einige organische Körper, die stark wasseranziehend sind, die Eigenschaft haben, den Zerfall solcher labiler Stoffe zu verhüten, also konservierend zu wirken, wie dies namentlich bezüglich der Salze für die Alexine von Buchner[1]) nachgewiesen wurde.

Tabelle XIX.

0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1proz. Methylenblaulösung.

	Staphylococc.	Coli
1. 5 ccm Bouillon + 5 ccm H_2O .	1 Min. 15 Sek.	3 Min. 15 Sek.
2. wie 1. + 1 % $NaNO_3$	1 › 50 ›	6 › — ›
3. › 1. + 5 % $NaNO_3$	4 › 30 ›	15 › — ›
4. › 1. + 10 % $NaNO_3$	7 › 30 ›	20 › — ›
5. › 1. + 1 % Na_2SO_4	1 › — ›	2 › 50 ›
6. › 1. + 5 % Na_2SO_4	1 › 15 ›	4 › 30 ›
7. › 1. + 10 % Na_2SO_4	2 › 10 ›	6 › 15 ›
8. › 7. nach 18 Stdn. bei 37° .	2 › 45 ›	—
9. › 1. › 18 › › 37° .	2 › 30 ›	—

Tabelle XX.

0,25 g Staphylococc. reduzierten 1,0 ccm 1proz. Methylenblaulösung.

1. 5 ccm 1 proz. Fleischextraktlösung[2])	3 Min. 30 Sek.
2. wie 1. nach 3 Stdn. bei 37° . . .	4 › 40 ›
3. › 1. + 10 proz. Rohrzucker . .	2 › 30 ›
4. › 3. nach 3 Stdn. bei 37° . . .	3 › 15 ›
5. › 1. + 25 proz. Rohrzucker . .	2 › 30 ›
6. › 5. nach 3 Stdn. bei 37° . . .	3 › 35 ›
7. › 1. + 50 proz. Rohrzucker . .	3 › 5 ›
8. › 7. nach 3 Stdn. bei 37° . . .	2 › 50 ›

Aus den vorstehenden Versuchen ist zunächst zu entnehmen, dafs Zusatz gröfserer Mengen von Na_2SO_4 in der That nur wenig schädigt, eher konservierend wirkt, wenn man bedenkt, dafs

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 17, S. 138.

2) Die langsamere Reduktion ist auf die in diesen Versuchen saure Reaktion der Fleischextraktlösung zurückzuführen.

hierdurch eine Vermehrung der Bakterien ausgeschlossen war, die in der Bouillonprobe ohne Zusatz eintrat. $Na_2 NO_3$ übt entschieden eine ungünstige Wirkung auf die Reduktion aus. Bei 50 % Rohrzuckerkonzentration ist der Ablauf der Reduktion auch nach mehrstündiger Digestion ein schnellerer. Dabei ist zu bemerken, dafs durch starken Rohrzuckerzusatz solche Suspensionen sich nahezu völlig aufhellen, so dafs man von suspendierten Teilen bei makroskopischer Betrachtung nur wenig mehr sieht. Es scheint in der That hier eine Lösung des Zellprotoplasmas in diesen stark konzentrierten Lösungen vor sich zu gehen.

Damit würden aber natürlich auch die reduzierenden Stoffe aus dem Zellleib in die Lösung übergehen und namentlich bei längerer Digestion müfsten dann solche Lösungen sogar stärker reduzierend wirken wie vorher, wofür die Gegenwart des Rohrzuckers an sich nach den früheren Ergebnissen (Tab. XVI) nicht verantwortlich gemacht werden könnte. Die folgenden Versuche zeigen, dafs dies in der That der Fall ist. Die Serien wurden so angelegt, dafs eine gröfsere Bakterienmenge mit 50 % Rohrzucker oder Glycerinlösung längere Zeit digeriert wurde und darnach durch Verdünnung mit Bouillon wieder Proben von gewöhnlicher Suspensionsstärke und niederem Rohrzucker- bezw. Glyceringehalt hergestellt wurden. Diese Suspensionen wurden mit Proben, die von Anfang des Versuches an gleich starken (10 %) Rohrzucker- bezw. Glycerin- und Bakteriengehalt aufwiesen und gleich lange digeriert waren, verglichen (s. Tab. XXI S. 315).

Diese Methode, durch starken Rohrzucker- und Glycerinzusatz aus frischen Bakterien die Inhaltsstoffe zu extrahieren, die für alte Kulturen ja z. B. bei der Darstellung des alten Tuberkulins Anwendung finden, dürfte geeignet sein, ebenso wie die Suspensionsmethode überhaupt, über die biologischen Wirkungen der Bakterienleibessubstanz in einzelnen Fällen Aufschlufs zu geben und wird auf ihre Brauchbarkeit nach dieser Richtung hin geprüft werden. Für die konservierende Wirkung starker Rohrzuckerzusätze kommt höchstwahrscheinlich auch in Betracht, dafs hierdurch die zerstörende Wirkung proteolytischer Enzyme

vermindert wird, wie E. Buchner dies für die Zymase nach-nachgewiesen hat.

Tabelle XXI.

0,2 g Kultur reduzierten 0,5 ccm 1 proz. Methylenblaulösung.

	Staphylococc.	Coli
1. 10 ccm 10 proz. Glycerinbouillon nach 2 St. bei 37°	1 Min. 50 Sek.	3 Min. 30 Sek.
2. 10 ccm 10 proz. Glycerinbouillon aus 50% nach 2 Std. bei 37° . .	— » 20 »	2 » 25 »
3. wie 1. nach 24 Std. bei 25° . .	—	3 » 45 »
4. wie 2. nach 24 Std. bei 25° . .	—	3 » 20 »
5. 10 ccm 10 proz Rohrzuckerbouillon nach 2 Std. bei 37°	1 Min. 20 Sek.	3 » 40 »
6. 10 ccm 10 proz. Rohrzuckerbouillon aus 50% nach 2 Std. bei 37° . .	— » 25 »	2 » 10 »
7. wie 5. nach 24 Std. bei 25° . .	—	3 » 15 »
8. wie 6. nach 24 Std. bei 25° . .	—	2 » 5 »

Von Interesse war es auch, zu untersuchen, ob die Agglutination der Bakterien die reduzierenden Wirkungen wesentlich beeinträchtigt, nachdem dieses Phänomen von einzelnen Autoren durch Veränderungen, die in der Zellmembran vor sich gehen sollen, erklärt worden ist. Choleravibrionen wurden durch starken Zusatz von altem Immunserum rasch agglutiniert, vom Serum abcentrifugiert, z. T. noch mit Kochsalzlösung gewaschen, in Bouillon suspendiert und mit Suspensionen nicht agglutinierter Bakterien verglichen.

Tabelle XXII.

Bakterienmenge	Bouillonmenge	Methylenblaulösung	Min.	Sek.
1. 0,5 g nicht agglutiniert	5 ccm	0,5 ccm $^1/_{10}$%	—	30
2. 0,5 g agglutiniert (nicht gewaschen)	5 ccm	0,5 ccm $^1/_{10}$%	—	20
3. 0,1 g nicht agglutiniert	10 ccm	0,5 ccm 1%	4	55
4. 0,15 g agglutiniert (gewaschen)	10 ccm	0,5 ccm 1%	4	30

Nach diesen Versuchen werden die Inhaltsstoffe der Bakterienzelle durch die Agglutination nicht wesentlich tangiert;

wenigstens wird die Reduktion dadurch anscheinend nicht beeinflufst. Diese Beobachtung stimmt überein mit den übrigen Thatsachen, welche bezüglich des Immunkörpers allein — und in dem hier verwandten alten Serum war kein Komplement vorhanden — in seinen Beziehungen zu den Bakterien festgestellt sind. Denn auch die Wachstumsenergie der Bakterien wird durch die Einwirkung des Immunkörpers nicht wesentlich gemindert.

Nach den Beobachtungen, die bezüglich der Abhängigkeit, welche die Reduktion in Bakteriensuspensionen von der Bakterienzahl zeigt, gemacht wurden, war es schon beinahe nicht mehr zweifelhaft, dafs die Reduktion durch die Bakterienleibessubstanz hervorgerufen wird. Immerhin suchten wir auch bezüglich der Bakterien den gleichen strikten Nachweis zu erbringen, der dem einen von uns bei der Hefe so überraschend geglückt war.

Die Erwartung, dafs auch hier die Buchner-Hahnsche Prefsmethode den Beweis liefern würde, erwies sich — wie bereits eingangs erwähnt wurde — als nicht stichhaltig; die aus Cholera- und Coli-Kulturen gewonnenen Prefssäfte zeigten keine reduzierenden Wirkungen. Man wird in der Erklärung nicht fehlgehen, wenn man annimmt, dafs hier vor allem die quantitativen Verhältnisse gegenüber dem Hefeprefssaft eine Rolle spielen. Die naturgemäfs nur kleinen Mengen von Bakterien liefern, auch bei mehrfachem Auspressen, unter Zusatz von NaCl-Lösung oder Bouillon nur schwach eiweifshaltige Prefssäfte: wie selbst bei der Hefe nachweisbar ist, bleibt im Prefskuchen eine grofse Menge der Zellinhaltsstoffe zurück. So kann es nicht Wunder nehmen, dafs namentlich bei der längeren Dauer der Prozedur, der Erhitzung, welche die Bakterien beim Zerreiben erfahren, der kleinen, überhaupt nur zur Verfügung stehenden Quantität schliefslich ein nicht reduzierender Saft resultiert. Indessen hoffen wir, mit einer verbesserten Methode doch noch zu einem zellfreien reduzierenden Saft zu gelangen.

Auch die Albertsche[1]) Methode führte zunächst nicht zum Ziele. Die durch schnelle Behandlung der feuchten Bakterienmassen mit Alkohol und Äther erhaltenen Trockenpräparate

1) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. 1900, S. 3775.

waren unwirksam, sie reduzierten nicht mehr. Eine Modifikation des Albertschen Verfahrens, über die von Albert, E. Buchner und R. Rapp berichtet worden ist[1]), ergab zwar Trockenpräparate der Bakterien, die noch eine erhebliche Wirksamkeit besafsen, allein es stellte sich heraus, dafs die meisten Arten durch diese Behandlung allein nicht abgetötet wurden. Erst als die mittels dieser Aceton-Methode dargestellten gelblich-weifsen, pulverförmigen Massen im Vakuum allmählich steigend auf 107° ½ bis 1 Stunde lang erhitzt wurden, gelangten wir zu Präparaten, die reduzierend wirkten und, wie die Kultivierungsversuche mit gröfseren Mengen zeigten, entweder ganz steril waren oder höchstens noch vereinzelte lebende Keime aufwiesen. Erhitzen unter Luftzutritt auf 107° vernichtete meist die Reduktionswirkung völlig. Die Erhitzung im Vakuum wurde in einem doppelwandigen Kupferbad, das durch Toluoldämpfe erhitzt wurde und oben durch einen aufgeschliffenen Kupferdeckel mit Bügelverschlufs nebst Dichtung geschlossen war, unter ständigem Absaugen ausgeführt. Der kleine Apparat, eine Modifikation des V. Meyerschen, hat sich für diese Zwecke aufs beste bewährt. Die nachfolgende Tabelle gibt einige der Werte wieder, die wir mit den gelungenen Präparaten erhalten haben. Es sei aber nicht verschwiegen, dafs wir auch, aus nicht immer festzustellenden Gründen, mitunter Mifserfolge zu verzeichnen hatten. (Siehe Tabelle XXIII S. 318.)

Aus diesen Versuchen kann man jedenfalls schliefsen, dafs es gelingt, die Zellen in trockenem Zustande abzutöten, ohne dafs sie ihre Reduktionskraft vollkommen einbüfsen. Allerdings vermindert sich dieselbe beträchtlich: denn 0,2 g trockener Masse entsprechen etwa 1 g feuchter Masse und trotzdem wirkt eine Suspension von 0,2 g der abgetöteten trockenen Bakterien meist noch nicht

---

1) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. 1902, S. 2376, C. Eykmann, Über Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 841—848. Durch Vermischung bezw. Überschichtung von Magermilch, Caseinlösung, Blut, Stärke, Fett mit Agar in Petrischalen will E. caseinspaltende, hämilolytische, amylolytische und fettspaltende Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen nachweisen.

Tabelle XXIII.

	Material	Medium	1 proz. Methylenblaulös.	Reduktionszeit	Bemerkungen
1.	0,2 g lebende, feuchte Staphylococc.	10 ccm Bouillon	1 ccm	1 Min. 50 Sek.	—
2.	0,2 g trockene Staphyl.-Masse	10 » »	1 »	2 » 5 »	nicht erhitzt, nicht ganz steril
3.	0,05 g desgl.	10 » »	1 »	1 » 25 »	desgl.
4.	0,4 » »	10 » »	1 »	1 » 15 »	»
5.	0,2 » »	10 ccm 1 proz. Fleischextraktlös.	1 »	3 » 45 »	»
6.	0,2 » »	10 ccm 2 proz. Witte-Peptonlösung	1 »	0 in 20 Min.	»
7.	0,2 » »	10 ccm H_2O	1 »	0 » 20 »	»
8.	0,1 » »	5 ccm Bouillon	1 »	2 Min. 10 Sek.	ganz steril, 1/2 Std. auf 107° erhitzt
9.	0,2 » »	10 » »	1 »	2 » 20 »	ganz steril, 1 Std. auf 107° erhitzt
10.	0,2 g trockene Coli-Masse	10 » »	0,5 »	28 » — »	desgl.
11.	desgl.	10 ccm 1 proz. Fleischextraktlös.	0,5 »	14 » — »	»
12.	0,2 g trockene Micrococc. ureae-Masse	10 ccm Bouillon	1 »	2 » — »	nicht ganz steril, nicht erhitzt
13.	0,1 g desgl.	10 » »	0,5 »	2 » 10 »	steril, 1/2 Std. auf 107° erhitzt

Vermehrungsfähigkeit der Bakterien geknüpft ist. Damit ist es aber wahrscheinlich gemacht, daſs auch die Reduktionsvorgänge in der Bakterienzelle, wie die der Hefezelle, durch enzymatische Körper hervorgerufen wurden, die in ihrem Verhalten und ihrer so schnell reduzierend wie 0,2 g feuchte, lebende Bakterienmasse. Indessen ist es nicht ausgeschlossen, daſs eine Verbesserung der Methode auch noch zu reduktionskräftigeren und dabei doch abgetöteten Zellen führt. Für den vorliegenden Zweck erschienen uns die Versuche genügend, weil sie uns darthaten, daſs die Reduktionsfähigkeit der Bakterien 1. an die Zellsubstanz, 2. aber nicht an die

Wirkung der Zymase nahe stehen. Vollkommen identifizieren mit dem, was wir bisher unter dem Begriff des Enzyms verstanden haben, kann man unseres Erachtens auch die Zymase nicht. Man wird genötigt sein, wie auch Wroblewski hervorhebt[1]), hier eine neue Gruppe von Substanzen den Enzymen anzugliedern, die unseres Erachtens charakterisiert ist 1. durch ihre aufserordentliche Labilität, 2. durch die Abhängigkeit ihrer Wirkung von der Zusammensetzung des Mediums und von ihrer eigenen Konzentration in diesem Medium. In diese Gruppe würden neben der Zymase auch die reduzierenden Zellsubstanzen fallen und auch die Wirkung des zellfreien Saftes von Arum maculatum[2]), sowie die der Alexine wäre hier anzugliedern. Nach den sub 2. genannten Eigenschaften aber ist anzunehmen, dafs unter natürlichen Verhältnissen diese Körper nicht als eigentlich gelöst in einer Flüssigkeit zu denken sind, sondern nur auf einen bestimmten Reiz hin, den man sich als physikalischen (Osmose?) oder chemischen vorstellen kann, von der Zelle abgeschieden werden, aber in den unmittelbar die Zelle umgebenden Flüssigkeitsteilchen bereits zur Wirkung gelangen und dabei verbraucht werden.

Die Untersuchungen mit lebenden und abgetöteten Zellen haben auch fernerhin gezeigt, dafs die Virulenz der Bakterien nicht im Zusammenhange mit ihrer reduzierenden Wirkung zu stehen scheint. Wenigstens gab eine Cholerakultur, deren Virulenz durch vielfache Tierpassage gesteigert war, hiernach keine höheren Reduktionswerte. Bei drei Diphtheriekulturen von verschiedener Giftigkeit konnte ein Zusammenhang mit der reduzierenden Wirkung gleichfalls nicht festgestellt werden.

Trockenes, stark wirksames Tetanus- und Diphtheriegift zeigte, wie schon Neifser und Wechsberg gefunden haben, in Lösungen keine Reduktion. Dagegen gab uns eine Lösung von Cobragift, das wir der Güte des Herrn Kapitäns Lamb-Bombay verdanken, stets eine deutliche, wenn auch schwache Reduktion

---

1) Journ. f. prakt. Chemie 1901.

2) M. Hahn, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1900, S. 3555.

(0,05 in 3 ccm Bouillon reduzierten 0,5 ccm $^{1}/_{10}$ proz. Methylenblaulösung in 3—6 Min.).

Nach Deutsch soll es gelingen, durch Behandlung von Tieren mit den Filtraten der Kulturen von Micrococc. ureae (in Urin) ein Serum zu erzeugen, das der Reduktion entgegenwirkt. Wir haben einen Versuch am Kaninchen angestellt, das innerhalb vier Wochen 19 ccm Filtrat erhielt. Das Serum wurde von uns vor und nach der Behandlung mit Suspensionen von Micrococc. ureæ in Bouillon geprüft. Es ergab sich keine wesentliche Veränderung durch den Serumzusatz weder vor noch nach der Behandlung. Deutsch hat zu seinen Prüfungen das Filtrat der Kulturen benutzt, also ein viel schwächer reduzierendes Agens. Es ist möglich, daſs unsere abweichenden Ergebnisse darauf zurückzuführen sind. Aber jedenfalls kann es sich nicht um eine starke Serumwirkung handeln.

Unsere Ergebnisse lassen sich folgendermaſsen zusammenfassen:

1. Für das genauere Studium der reduzierenden Wirkungen der Bakterien empfiehlt sich die Benutzung von Suspensionen ein- bis zweitägiger Kulturen unter Verwendung von Methylenblau als Indikator bei einer Temperatur von 37°. Die reduzierende Wirkung so geprüfter Suspensionen ist vor allem abhängig a) von der Bakterienart, b) von der Zahl der darin enthaltenen Zellen.
2. Die reduzierende Fähigkeit der meisten Bakterienarten erlischt beim Erhitzen der Kulturen auf 60°.
3. Die anaërobe Züchtung vermehrt bei fakultativen Anaërobiern die reduzierenden Wirkungen; der Luftabschluſs wirkt konservierend auf das Reduktionsvermögen von Suspensionen aërob gewachsener Bakterien.
4. Die Lösungen, welche sich für die Züchtung der Bakterien bewährt haben, stellen auch das günstigste Medium für die Entfaltung der reduzierenden Wirkungen in Suspensionen dar, wobei die N-haltigen Bestandteile der Nährlösungen die wichtigste Rolle zu spielen scheinen.

5. Antiseptica vermindern das Reduktionsvermögen der Bakterien, relativ wenig Chloroform und Toluol.
6. Starke Zusätze von Natriumsulfat, Glycerin, Rohrzucker wirken konservierend auf das Reduktionsvermögen der Bakterien.
7. Durch Zusatz von 50 proz. Rohrzucker oder Glycerin zu den Suspensionen und nachherige Digestion bei 25° bezw. 37° gelingt es, die Reduktionswirkung zu vermehren, ein Vorgang, der wahrscheinlich durch eine Lösung des Zellprotoplasmas zu erklären ist.
8. Die Agglutination schädigt die Reduktionswirkung der Choleravibrionen nicht.
9. Es ist gelungen, Trockenpräparate von Bakterien darzustellen, welche keine Vermehrungsfähigkeit, wohl aber noch ein wenn auch gemindertes Reduktionsvermögen zeigen.
10. Dadurch ist es höchst wahrscheinlich gemacht, dafs die reduzierenden Wirkungen, welche die Bakterienkulturen entfalten, hauptsächlich an die Bakterienzelle geknüpft sind und von ihr durch einen nur auf bestimmte Reize hin abgesonderten enzymartigen Körper ausgeübt werden.
11. Zwischen Giftigkeit bezw. Virulenz der Kulturen und ihrem Reduktionsvermögen konnte ein Zusammenhang nicht festgestellt werden.
12. Cobragift zeigt ein schwaches Reduktionsvermögen.

Über den Einfluſs der Besonnung auf den Gaswechsel des Menschen.

Von

Privatdozent Dr. **Heinrich Wolpert.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Rubner hat bereits vor einer Reihe von Jahren Versuche an Tieren über den Einfluſs der Sonnenstrahlung auf die Stoffzersetzung mitgeteilt[1]), welche darthun, daſs die Wärmeregulation des Hundes unter dem Einfluſs der Besonnung nach Maſsgabe rund des halben Temperaturüberschusses der Sonnen- über die Schattentemperatur beeinfluſst wird: das besonnte Tier zeigte bei 25° im Schatten und gleichzeitig 43° in der Sonne (Überschuſs 18°) die gleiche Stoffzersetzung wie das beschattete Tier bei 34° Lufttemperatur.

Mit steigender Lufttemperatur war die Wärmeproduktion in diesen Versuchen am Hund durchweg in einer Erhöhung der produzierten Kalorien zu Tage getreten[2]). Da aber späterhin durch zahlreiche Versuche (an Person Bretschn.) von mir be-

---

1) Dieses Archiv, Bd. 20 (1894), S. 345.

2) Pro Kilogramm Körpergewicht betrug die Gesamtwärmeproduktion des Hundes, auf 24 Stunden berechnet:

a) bei fehlender Besonnung 58,2 Kal. für 25°, 61,8 Kal. für 30°, 68,7 Kal. für 35°;

b) im besonnten Zustand 64,5 Kal. für 25° Schatten und 43° Sonne,

wobei auf die Wasserverdampfung entfielen:

a) bei fehlender Besonnung 14,2 Kal. für 25°, 19,9 Kal. für 30°, 46,3 Kal. für 35°;

b) im besonnten Zustand 44,2 Kal. für 25° Schatten und 43° Sonne.

wiesen wurde, daſs der Mensch in hochwarmer Luft wesentlich anders als der Hund reguliert, indem ersterer von etwa 27° ab, mit dem Schweiſsausbruch beginnend, auf weitere Erhöhung der Lufttemperatur mit einer Einschränkung der Stoffzersetzung reagiert, und dies sowohl ruhend[1]) wie auch arbeitend[2]), so steht beim Menschen für unsere hochsommerlichen Verhältnisse eher eine verminderte denn eine vermehrte Wärmeproduktion als Wirkung der Besonnung zu erwarten. Und es blieb zu untersuchen, ob auch diese, unter dem Einfluſs der Besonnung vermutlich erfolgende Abnahme, nach Maſsgabe nur eines Teiles des vollen Temperaturüberschusses der Sonnen- über die Schattentemperatur sich geltend mache.

In der vorliegenden orientierenden Versuchsreihe wurde mittels des Zuntzschen Respirationsapparates der Einfluſs der Besonnung auf den Gaswechsel des Menschen geprüft. Die Versuchsperson (Gandré) besaſs einen recht kräftigen Körperbau und hatte nackt ein Gewicht von 65 kg. Versuchsraum war das photographische Atelier des Instituts. Das Dach und die Auſsenwand des Versuchsraumes, aus Glas bestehend, wurden während der Sonnenversuche zur Erzielung einer möglichst niedrigen Schattentemperatur ausgiebig mit Wasser überrieselt. In allen Versuchen lag G. unter völliger Muskelentspannung ausgestreckt auf einem Liegestuhl. Streng geachtet wurde auf sämtliche Cautelen, welche Zuntz für das Arbeiten an seinem Apparat vorschreibt[3]). Im übrigen wurden die Versuchsbedingungen thunlichst gleich denen bei meinen früheren Versuchspersonen, insbesondere Bretschn., gehalten.

In den vier Versuchsgruppen an Gandr. betrug die Lufttemperatur:

a) Bekleidet ohne Sonne, 20° im Schatten.
b) Bekleidet mit Sonne, 22° Schatten u. 38° (= 22 + 16) Sonne.
c) Nackt ohne Sonne, 25° im Schatten.
d) Nackt mit Sonne, 30° Schatten u. 41° (= 30 + 11) Sonne.

1) Dieses Archiv, Bd. 31, S. 151 u. 178; Bd. 33, S. 225.
2) Dieses Archiv, Bd. 36, S. 211.
3) Pflügers Archiv, Bd. 46, 55 u. s. w.

Es dürfte zweckdienlich sein, zunächst einer kurzen Betrachtung zu unterziehen: welche Kohlensäurebildung die frühere Versuchsperson (Bretschn.) nach Versuchen am Pettenkoferschen Respirationsapparat bei diesen Lufttemperaturen gezeigt hatte, und welche Kohlensäurebildung man, fufsend auf Rubners Tierversuchen, im Zustand der Besonnung erwarten durfte (s. unter I)? Hieran wird sich ein kritischer Vergleich der mit der neuerlichen Versuchsperson (Gandré) thatsächlich erhaltenen Zahlenwerte anschliefsen (s. unter II und III).

I.

Die Versuchsperson Bretschn., 57 kg schwer, hatte geliefert[1]):

Bei 0—5 °	Lufttemperatur	29,2 g	Kohlensäure	pro	Stunde
» 5—10 °	»	27,1 g	»	»	»
» 10—15 °	»	25,1 g	»	»	»
» 15—20 °	»	24,1 g	»	»	»
» 20—25 °	»	25,0 g	»	»	»
» 25—30 °	»	25,3 g	»	»	»
» 30—35 °	»	23,7 g	»	»	»
» 35—40 °	»	21,2 g	»	»	»

Durch Interpolieren findet man:

Für 20 ° im bekleideten Zustand (*a* oben) war die Kohlensäureabgabe $\frac{24,1 + 25,0}{2} = 24,5$ g/St., und für 25 ° im nackten Zustand (*c* oben) angenähert ebenso grofs oder richtiger etwas geringer, nämlich etwa 24,1 g/St., wie vorstehend für 15—20 ° = 17,5 ° angegeben, wenn man, was sicher angenähert richtig sein wird, die wärmehaltende Kraft seiner Kleidung mit 7—8 ° Temperaturschutz veranschlagt.

Trifft die Angabe Rubners auch für den Menschen genau zu, so würde Bretschn. im Zustande der Besonnung geliefert

1) Dieses Archiv, Bd. 33, Diagramm auf Seite 224. Aus der Kurve daselbst ist der Abfall von 0—20 °, der Anstieg von 20—30 °, und der nochmalige Abfall von 30—40 ° anschaulicher als aus der hier gegebenen zahlenmäfsigen Zusammenstellung zu ersehen. Vergl. auch Archiv, Bd. 26, S. 59; Bd. 33, S. 223 unten; Bd. 36, S. 204 u. 211.

haben: Für 22° im Schatten kombiniert mit 38° in der Sonne, und zwar bekleidet (*b* oben), dieselbe Menge wie bei $22 + \frac{38-22}{2}$ $= 30°$ ohne Sonne, nämlich $\frac{25,3 + 23,7}{2} = 24,5$ g/St., d. h.: durch die Besonnung wäre im vorliegenden Fall keinerlei Änderung in der Kohlensäurebildung veranlaſst worden. Wäre jedoch die volle Sonnentemperatur (38°) ein Kriterium für die wärmende Wirkung der Witterung, so muſste die Abgabe auf 21,2 g/St. sinken.

Für 30° im Schatten ferner, kombiniert mit 41° in der Sonne, im nackten Zustand (*d* oben), stand nach Rubners Angabe dieselbe Produktion wie bei $30 + \frac{41-30}{2} = 35,5°$ ohne Sonne in Aussicht, nämlich angenähert $\frac{23,7 + 21,2}{2}$ $= 22,5$ g/St., nicht aber < 20 g/St., wie sich durch Interpolieren für 41° Lufttemperatur bei fehlender Besonnung ergeben würde.

Hieraus geht also folgendes hervor:

Nach den bisher an unserem Institut gewonnenen Erfahrungen und Anschauungen ist anzunehmen, daſs der Bekleidete unter den gegebenen Bedingungen (*a* und *b* oben), im Zustand der Besonnung nicht mehr und nicht weniger Kohlensäure abgibt als bei fehlender Besonnung; ferner wird der Nackte unter den gegebenen Bedingungen (*c* und *d* oben), voraussichtlich wesentlich weniger Kohlensäure bei Besonnung als im Schatten abgeben, jedoch lange nicht so wenig, wie dem vollen Überschuſs der Sonnen- über die Schattentemperatur entspricht.

In übersichtlicher Zusammenstellung seien die vermutungsweise berechneten Abgaben wiederholt.

Kohlensäurebildung von Bretschn. (Pettenkofers Apparat.)

a) 24,5 g/St. bekleidet ohne Besonnung, Lufttemperatur 20°.
b) 24,5 g/St. bekleidet mit Besonnung, Schatten 22° u. Sonne 38°.
c) 24,1 g/St. nackt ohne Besonnung, Lufttemperatur 25°.
d) 22,5 g/St. nackt mit Besonnung, Schatten 30° u. Sonne 41°.

II.

Diesen Vermutungen gegenüber ergaben die Versuche mittels des Zuntzschen Apparates an dem 65 kg schweren Gandr. folgendes:

Für 20°, bekleidet bei fehlender Besonnung, war die Kohlensäureabgabe 25,4 g/St., oder zusammengehend mit dem höheren Körpergewicht etwas gröſser als bei Bretschn., welcher nur 24,5 g/St. produziert hatte.

Für 25° im nackten Zustand erreichte bei fehlender Besonnung die Kohlensäurebildung Gandr.'s nicht ganz diese Höhe (25,4); es wurden nur 25,1 g/St. nachgewiesen, wie auch oben in ganz analoger Weise für Bretschn. ein Sinken von 24,5 auf 24,1 berechnet worden war.

Für 22° im Schatten kombiniert mit 38° in der Sonne, bildete Gandr. bekleidet unter dem Einfluſs der ihn treffenden Strahlung 25,5 g/St. Kohlensäure, d. i. sozusagen die nämliche Gröſse wie bei 20° ohne Sonne (25,4 g/St.). Ein analoges Gleichbleiben der Produktion unter den gegebenen Voraussetzungen, nämlich 24,5 g/St. Kohlensäure mit wie ohne Besonnung, hatte oben die rechnerische Überlegung für Bretschn. erkennen lassen. Käme der Temperaturüberschuſs von Sonnen- über Schattentemperatur voll zur wärmenden Wirkung, so hätte Gandr. zweifellos ein Sinken der Abgabe zeigen müssen, welches hier ausblieb und auch ausbleiben muſste, in anderen Fällen jedoch auftreten kann, wie durch die vierte Versuchsgruppe bewiesen wird. Hierbei brannte die Sonne auf die nackte Haut, es wurde wesentlich mehr geschwitzt und somit[1]) wesentlich weniger Wärme produziert.

Für 30° im Schatten kombiniert mit 41° in der Sonne, bildete Gandr. nämlich nackt unter dem Einfluſs der Strahlung nur 22,5 g/St. Kohlensäure, gegenüber 25,1 nackt ohne Sonne bei 25°. Genau die gleiche Abgabe (22,5) hatte oben bereits die Rechnung für Bretschn. ergeben, obwohl letzterer doch normalerweise eine etwas geringere Kohlensäurebildung, nämlich 24,5 gegen 25,5 aufweist. Beim nackten Gandr. trat daher noch

1) Dieses Archiv, Bd. 33, S. 226.

etwas mehr als der halbe Überschufs der Sonnen- über die Schattentemperatur in einer dem Steigen der Lufttemperatur gleichwertigen Weise in wärmende Wirksamkeit, bei weitem jedoch nicht der volle Temperaturüberschufs.

Wie oben für Bretschn. die vermutungsweise berechneten, so seien schliefslich auch hier für Gandr. die experimentell erhobenen Abgaben zusammengefafst.

Kohlensäurebildung von Gandr. (**Zuntzscher Apparat.**)

a) 25,4 g/St. bekleidet ohne Besonnung, Lufttemperatur 20°.
b) 25,5 g/St. bekleidet mit Besonnung, Schatten 22° u. Sonne 38°.
c) 25,1 g/St. nackt ohne Besonnung, Lufttemperatur 25°.
d) 22,5 g/St. nackt mit Besonnung, Schatten 30° u. Sonne 41°.

III.

Der Befund am Menschen, insbesondere am Bekleideten, bestätigt somit vollauf die von Rubner auf Grund seiner Tierversuche gemachten Angaben.

Der respiratorische Quotient zeigte keine erheblichen Schwankungen; er betrug in den Versuchen in Kleidung 0,73 ohne, und 0,67 mit Sonne (vergl. Generaltabelle), und in den Versuchen im nackten Zustande 0,66 ohne und 0,61 mit Sonne. Das Sinken des Quotienten bei Besonnung findet wohl seine Erklärung in der stark gesteigerten Wasserverdampfung; denn unter Bedingungen, die zu Fettverlust zu führen geeignet waren, habe ich in früheren Versuchen noch wesentlich niedrigere Quotienten beobachtet[1]), so dafs jedenfalls hier bei den Sonnenversuchen kein Anlafs vorliegt, etwa an eine Aufspeicherung von Sauerstoff oder von unvollkommen oxydierten Substanzen im Körper zu denken.

Da der respiratorische Quotient stets < 1 war, so wurde dementsprechend auch die Einatmungsgröfse stets gröfser als die Ausatmungsgröfse gefunden. Letztere, die Atmungsgröfse schlechtweg, war im bekleideten Zustand bei Besonnung wesentlich gesteigert (297 Liter/St. im Schatten, 368 Liter/St. in der Sonne), welcher Umstand vielleicht der durch die stark erwärmte

1) Dieses Archiv, Bd. 36, S. 301.

Kleidung erheblich gesteigerten, mit Luftbewegung einhergehenden Kleiderventilation zuzuschreiben ist. Wenigstens haben Versuche an einer anderen Versuchsperson (Behrend) zu dem Resultate geführt, daſs durch bewegte Luft die Atmungsgröſse zwar nicht ganz allgemein, jedoch die Atmungsgröſse des frierenden und auch des schwitzenden Individuums gesteigert wird[1]). Im nackten Zustande dagegen dürfte bei mäſsiger Besonnung kaum eine Steigerung der Atmungsgröſse in Aussicht stehen, da infolge des Fehlens der heiſsen aufgelagerten Decke kein vermehrter Wechsel der die Haut umgebenden Luftschicht zu erwarten ist und die feuchte Haut vielmehr, durch Verdampfung gekühlt, gleiche oder doch angenähert gleiche Temperatur mit der Umgebungsluft haben wird. Infolgedessen stieg die Atmungsgröſse im nackten Zustande bei Besonnung nicht ebenfalls, sie nahm sogar, dem Aufenthalt im Schatten gegenüber, etwas ab.

Aus den Respirations-Sonnenversuchen im geschlossenen Raum lassen sich noch keine Schlüsse ziehen, welche zahlenmäſsigen Änderungen des Stoffwechsels Platz greifen, wenn man das Zimmer verläſst, um sich der Besonnung im Freien auszusetzen. Denn der Aufenthalt im Freien ist immer zugleich ein Aufenthalt in bewegter Luft. Da jedoch der Einfluſs der bewegten Luft auf den Gaswechsel eingehend studiert ist[2]), läſst sich dieser Faktor darnach berücksichtigen; man braucht nur die Windgeschwindigkeit im Freien zu messen.

Unter Annahme einer mittleren Windgeschwindigkeit von 8 m im Freien sind in den Tabellen I—VI, welche unten auf die Generaltabelle folgen, die Resultate solcher Rechnungen zusammengestellt. Man kann hieraus für die meisten alltäglichen Fälle den von der Besonnung und überhaupt vom Wechsel der Lufttemperatur zu erwartenden Effekt unmittelbar entnehmen. Bei stärkerem Wind wird der Ausschlag etwas gröſser, bei schwächerer Luftbewegung nicht viel kleiner als daselbst angegeben. Denn die Wasserdampf- und Kohlensäureabgabe ändert

1) Dieses Archiv, Bd. 43, S. 42.
2) Dieses Archiv, Bd. 33, S. 206—228.

sich mit Zunahme der Windintensität nicht proportional, sondern bei stärkerem Wind wird die Änderung relativ geringer. Ein Wind von 8 m hat weit mehr als die halbe Wirkung eines Windes von 16 m, und schon ein (unbemerkter) Wind von 1 m beeinflußt die Abgaben in deutlicher Weise[1]).

Die in Tabelle I—VI angegebenen Versuchszahlen gelten ohne weiteres für die Versuchsperson Bretschneider (57 kg) und ähnliche Individuen, sind jedoch sämtlich auch prozentisch berechnet und daher mittels einer einfachen Rechnungsoperation (Multiplikation) auf beliebige andere Personen, deren normale Produktion man kennt, übertragbar.

Hiermit sollte nur die Wirkung der Besonnung unter sozusagen normalen Verhältnissen betrachtet werden. Daß die Wirkung der Sonnenstrahlung in besonderen Fällen eine weit intensivere zu sein vermag und zum Beispiel da, wo sie, wie auf Gletscherwanderungen, die Haut exponierter Körperteile (Nase, Ohren u. s. w.) zur Ablösung bringt, mit Nebenwirkungen, welche vielleicht auch den Gaswechsel in anderer Weise, als hier dargelegt, beeinflussen, verknüpft sein kann, soll nicht bestritten werden. So großes wissenschaftliches Interesse derartige Versuche, z. B. im Hochgebirge, bieten würden, so wären sie doch für die allgemeine Volkshygiene von recht untergeordneter Bedeutung.

Darf ich zum Schluß das Resultat der vorliegenden Versuche in Kürze zusammenfassen, so wäre zu sagen:

Die Wirkung der Besonnung auf den Gaswechsel des Menschen äußert sich darin, daß die wärmende Wirkung der Sonne in einer dem Steigen der Lufttemperatur gleichwertigen Weise nach Maßgabe der Hälfte des Temperaturüberschusses der Sonnen- über die Schattentemperatur zu Tage tritt.

Die Kohlensäurebildung wird im allgemeinen durch die Besonnung bei tiefer Lufttemperatur in absolut unbewegter Luft, wie letztere nur für den allseitig geschlossenen Raum annehmbar ist, vermindert, jedoch regelmäßig gesteigert bei Übergang vom Schatten des Zimmers in den Sonnenschein der bewegten freien Luft; die Kohlensäurebildung bei mittlerer

1) Dieses Archiv, Bd. 33, S. 228.

Lufttemperatur, 15—25°, zeigt sich, je nach Schattentemperatur und Strahlungsintensität, durch die Besonnung erhöht insbesondere bei geringer Strahlung (bei Übergang vom Zimmer ins Freie stärker erhöht), durch die Besonnung nicht oder unwesentlich beeinflufst insbesondere bei mäfsiger Strahlung, durch die Besonnung vermindert insbesondere bei

Generaltabelle. **Abteilung I.**

Nummer	Tag 1899	Bekl. oder Nackt	Ohne oder mit Sonne	Luft: Temper. Schatten	Luft: Temper. Sonne	Luft: Feucht. Schatt.	Atmung durch die Ventile a) Vorperiode b) Versuch	Ausatemluft im Versuch: Liter Luft reduciert	CO_2	O_2	N	O_2-Defizit	Atemfrequenz pro Minute
				Grad	Grad	%			%	%	%	%	
1	26.VII.	Bekl.	Ohne	20,5	—	38	a) 15 Min. b) 24 »	124,455	4,40	15,75	79,85	5,40	9—11
2	28.VII.	Bekl.	Ohne	18,5	—	53	a) 15 Min. b) 25 »	118,909	4,30	15,45	80,25	5,80	9—11
3	28.VII.	Bekl.	Ohne	20,5	—	42	a) 10 Min. b) 25 »	125,556	4,40	15,45	80,15	5,75	10
4	28.VII.	Bekl.	Ohne	20,5	—	38	a) 10 Min. b) 24 »	116,451	4,30	15,20	80,50	6,11	10
5	28.VII.	Bekl.	Ohne	22,3	—	32	a) 10 Min. b) 25 »	124,091	4,25	14,85	80,90	6,56	9
6	1.VIII.	Bekl.	Ohne	20,5	—	66	a) 20 Min. b) 26 »	126,817	4,00	15,50	80,50	5,81	7—8
Mittel	—	Bekl.	Ohne	20,5	—	45	b) 25 Min.	122,897	4,28	15,37	80,36	5,91	9½
7	2.VIII.	Bekl.	Mit	21,0	38,0	40	a) 17 Min. b) 21 »	124,000	3,25	15,85	80,90	5,56	10
8	3.VIII.	Bekl	Mit	23,0	38,0	34	a) 20 Min. b) 19 »	130,091	3,40	16,25	80,35	5,02	10
Mittel	—	Bekl.	Mit	22,0	38,0	37	b) 20 Min.	127,046	3,33	16,05	80,63	5,29	10
9	4.VIII.	Nackt	Ohne	25,0	—	41	a) 11 Min. b) 21 »	127,091	3,45	16,05	80,50	5,26	8
10	4.VIII.	Nackt	Mit	29,5	41,0	30	a) 12 Min. b) 23 »	128,455	3,45	15,60	80,95	5,82	9
11	5.VIII.	Nackt	Mit	30,0	40,5	28	a) 15 Min. b) 23 »	123,636	3,40	15,95	80,65	5,40	11
Mittel	—	Nackt	Mit	29,7	40,7	29	b) 23 Min.	126,046	3,43	15,78	80,80	5,61	10

starker Strahlung (bei Übergang vom Zimmer ins Freie stärker vermindert); die Kohlensäurebildung wird endlich in hochwarmer Luft durch die Besonnung regelmäſsig vermindert (bei Übergang vom Zimmer ins Freie stärker vermindert).

Einzel-Nachweise sind den nachstehenden Tabellen, welche durch Interpolieren ergänzt werden können, zu entnehmen.

Abteilung II. **Generaltabelle.**

Nummer	Pro Minute				Atemtiefe		Pro Stunde				Resp. Quotient	Bemerkungen
	Einatemgröſse	Ausatemgröſse	CO_2-Bildung	O_2-Verbrauch	Inspirium	Exspirium	Einatemgröſse	Ausatemgröſse	CO_2-Bildung	O_2-Verbrauch		
	Liter	Liter	ccm	ccm	ccm	ccm	Liter	Liter				
1	5,282	5,227	230,0	282,3	528	523	316,9	313,6	13,8 l = 27,6 g	16,9 l = 24,2 g	0,81	Kein Schweiſs
2	4,827	4,756	204,5	275,8	483	476	289,6	285,4	12,3 l = 24,6 g	16,6 l = 23,7 g	0,74	Kein Schweiſs
3	5,091	5,022	221,0	288,8	509	502	305,5	301,3	13,8 l = 27,6 g	17,3 l = 24,7 g	0,78	Kein Schweiſs
4	4,940	4,852	208,6	296,5	494	485	296,4	291,1	12,5 l = 25,0 g	17,8 l = 25,5 g	0,70	Kein Schweiſs
5	5,075	4,960	210,8	325,4	564	551	304,5	297,6	13,1 l = 26,2 g	19,5 l = 27,9 g	0,65	Kein Schweiſs
6	4,965	4,877	195,1	283,4	661	650	297,9	292,6	11,7 l = 23,4 g	17,0 l = 24,3 g	0,69	Kein Schweiſs
Mittel	5,030	4,949	211,7	292,0	540	531	301,8	296,9	12,70 l = 25,4 g	17,52 l = 25,1 g	0,73	
7	6,042	5,905	191,9	328,3	604	590	362,5	354,3	11,5 l = 23,0 g	19,7 l = 28,2 g	0,66	Schweiſs an Hals u. Brust
8	6,957	6,847	232,8	343,7	696	685	417,4	410,8	13,9 l = 27,8 g	20,6 l = 29,5 g	0,68	Schweiſs an Hals u. Brust
Mittel	6,500	6,376	212,4	336,0	650	638	390,0	368,5	12,74 l = 25,5 g	20,16 l = 28,8 g	0,67	
9	6,161	6,052	208,8	318,3	770	757	369,7	363,1	12,53 l = 25,1 g	19,10 l = 27,3 g	0,66	Kein Schweiſs
10	5,718	5,585	192,7	325,0	635	621	343,1	335,1	11,6 l = 23,2 g	19,5 l = 27,9 g	0,59	Starker Schweiſs
11	5,384	5,375	182,8	290,3	489	489	323,0	322,5	10,9 l = 21,8 g	17,4 l = 24,9 g	0,63	Starker Schweiſs
Mittel	5,551	5,480	187,8	307,7	562	555	333,1	328,8	11,27 l = 22,5 g	18,46 l = 26,4 g	0,61	

Tabelle I.

Einflufs der Lufttemperatur im Schatten des Zimmers.

Im Zimmer (vor Sonne geschützt)			Änderung gegen: ›20° im Zimmer vor Sonne geschützt‹	
Temp.	Gramm pro St.			
	CO_2	H_2O	CO_2	H_2O
10°	26,1	33	$\frac{26,1}{24,5} = \frac{\mathbf{1,07}}{1,00}$	$\frac{33}{18} = \frac{\mathbf{1,83}}{1,00}$
15°	24,6	22	$\frac{24,6}{24,5} = \frac{\mathbf{1,00}}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{\mathbf{1,22}}{1,00}$
20°	24,5	18	$\frac{24,5}{24,5} = \frac{\mathbf{1,00}}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{\mathbf{1,00}}{1,00}$
25°	25,2	31	$\frac{25,2}{24,5} = \frac{\mathbf{1,03}}{1,00}$	$\frac{31}{18} = \frac{\mathbf{1,72}}{1,00}$
30°	24,5	63	$\frac{24,5}{24,5} = \frac{\mathbf{1,00}}{1,00}$	$\frac{63}{18} = \frac{\mathbf{3,50}}{1,00}$
35°	22,6	100	$\frac{22,6}{24,5} = \frac{\mathbf{0,92}}{1,00}$	$\frac{100}{18} = \frac{\mathbf{5,56}}{1,00}$
40°	19,8	113	$\frac{19,8}{24,5} = \frac{\mathbf{0,81}}{1,00}$	$\frac{113}{18} = \frac{\mathbf{6,28}}{1,00}$

Tabelle I und II zeigen die Wirkung von Temperaturänderungen bei fehlender Besonnung und sind zum Vergleich mit Tabelle III und IV, welche die Wirkung von Temperaturschwankungen bei stattfindender Besonnung darthun, hierher gesetzt.

Aus Tabelle I für sich ist beispielsweise ersichtlich:

Begibt man sich im Winter von einem 20° warmen Wohnraum in ein nur 10° warmes Schlafzimmer, so erfährt die CO_2-Bildung eine Steigerung auf das $\frac{26,1}{24,5} = 1,07$ fache, die H_2O-Abgabe eine Steigerung auf das $\frac{33}{18} = 1,83$ fache.

Beim Übergang von einem 20° warmen Wohnzimmer in einen überwärmten Raum mit 30° Lufttemperatur würde die CO_2-Bildung keinerlei Änderung erleiden, die H_2O-Abgabe dagegen auf das $\frac{63}{18} = 3,50$ fache gesteigert werden.

Beim Übergang von 20 auf 10° wird die Wasserverdampfung erheblicher gesteigert, als von 20 auf 25° (dort auf das 1,83fache, hier nur auf das 1,72fache).

Tabelle II.

Einflufs der Lufttemperatur im Schatten des Freien.

Im Freien (vor Sonne geschützt)			Änderung gegen: »20° im Zimmer vor Sonne geschützt«	
Temp.	Gramm pro St.			
	CO_2	H_2O	CO_2	H_2O
10°	30,0	36	$\frac{30,0}{24,5}=\frac{1,22}{1,00}$	$\frac{36}{18}=\frac{2,00}{1,00}$
15°	30,1	24	$\frac{30,1}{24,5}=\frac{1,22}{1,00}$	$\frac{24}{18}=\frac{1,33}{1,00}$
20°	29,2	18	$\frac{29,2}{24,5}=\frac{1,19}{1,00}$	$\frac{18}{18}=\frac{1,00}{1,00}$
25°	26,2	20	$\frac{26,2}{24,5}=\frac{1,07}{1,00}$	$\frac{20}{18}=\frac{1,11}{1,00}$
30°	22,9	36	$\frac{22,9}{24,5}=\frac{0,94}{1,00}$	$\frac{36}{18}=\frac{2,00}{1,00}$
35°	21,8	100	$\frac{21,8}{24,5}=\frac{0,89}{1,00}$	$\frac{100}{18}=\frac{5,56}{1,00}$
40°	22,3	216	$\frac{22,3}{24,5}=\frac{0,91}{1,00}$	$\frac{216}{18}=\frac{12,00}{1,00}$

Aus Tabelle II ist beispielsweise ersichtlich:

Beim Übergang vom 20° warmen Zimmer in eine gleich warme bewegte Aufsenluft wird die CO_2-Bildung auf das 1,19 fache gesteigert, die H_2O-Abgabe dagegen erleidet keine Änderung.

Beim Übergang vom 20° warmen Zimmer ins Freie wird bei einer Aufsentemperatur von 10° die CO_2-Bildung auf das 1,22 fache und die H_2O-Abgabe auf das 2,00 fache gesteigert.

Beim Übergang vom 20° warmen Zimmer ins Freie wird bei einer Aufsentemperatur von 30° die CO_2-Bildung auf das 0,94 fache herabgesetzt und die H_2O-Abgabe (wie zuvor beim Sinken der Lufttemperatur auf 10°) auf das 2,00 fache gesteigert.

Aus dem Zusammenhalt von Tabelle I und II lassen sich die Änderungen auch gegen andere Ausgangstemperaturen als 20° berechnen, z. B. für 25°:

Beim Übergang vom 25° warmen Zimmer ins Freie wird bei einer Aufsentemperatur von 30° die CO_2-Bildung auf das $\frac{24,5}{25,2}=0,97$ fache herabgesetzt und die H_2O-Abgabe auf das $\frac{63}{31}=2,03$ fache gesteigert.

Tabelle III.

Einfluſs der Besonnung im Zimmer.

Sonne im Zimmer				Änderung gegen: »20° im Zimmer vor Sonne geschützt«	
Temperatur		Bei Besonnung Gramm pro St.			
Schatt.	Sonne	CO_2	H_2O	CO_2	H_2O
10°	15°	25,1	27	$\frac{25,1}{24,5} = \frac{1,02}{1,00}$	$\frac{27}{18} = \frac{1,50}{1,00}$
10°	20°	24,6	22	$\frac{24,6}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
15°	20°	24,1	18	$\frac{24,1}{24,5} = \frac{0,98}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{1,00}{1,00}$
15°	25°	24,5	18	$\frac{24,5}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{1,00}{1,00}$
15°	30°	25,0	23	$\frac{25,0}{24,5} = \frac{1,02}{1,00}$	$\frac{23}{18} = \frac{1,28}{1,00}$
20°	25°	25,0	23	$\frac{25,0}{24,5} = \frac{1,02}{1,00}$	$\frac{23}{18} = \frac{1,28}{1,00}$
20°	30°	25,2	31	$\frac{25,2}{24,5} = \frac{1,03}{1,00}$	$\frac{31}{18} = \frac{1,72}{1,00}$
20°	35°	25,3	43	$\frac{25,3}{24,5} = \frac{1,03}{1,00}$	$\frac{43}{18} = \frac{2,39}{1,00}$
20°	40°	24,5	63	$\frac{24,5}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{63}{18} = \frac{3,50}{1,00}$
25°	30°	25,3	43	$\frac{25,3}{24,5} = \frac{1,03}{1,00}$	$\frac{43}{18} = \frac{2,39}{1,00}$
25°	35°	24,5	63	$\frac{24,5}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{63}{18} = \frac{3,50}{1,00}$
25°	40°	23,7	93	$\frac{23,7}{24,5} = \frac{0,97}{1,00}$	$\frac{93}{18} = \frac{5,17}{1,00}$
30°	35°	23,7	93	$\frac{23,7}{24,5} = \frac{0,97}{1,00}$	$\frac{93}{18} = \frac{5,17}{1,00}$
30°	40°	22,6	100	$\frac{22,6}{24,5} = \frac{0,92}{1,00}$	$\frac{100}{18} = \frac{5,56}{1,00}$

Aus Tabelle III ist beispielsweise ersichtlich:

Im 20° warmen Zimmer wird durch das Setzen vom Schatten in die Sonne, wo das Schwarzkugelthermometer 30° zeigen mag, die Kohlensäurebildung kaum beeinfluſst (auf das 1,03 fache gesteigert), die Wasserabgabe auf das 1,72 fache gesteigert.

Durch den Übergang vom Schatten eines 20° warmen Zimmers in einen Raum, wo das Thermometer im Schatten 10°, in der Sonne aber 20° zeigt, wird beim Setzen in die Sonne die Kohlensäurebildung nicht beeinfluſst, die Wasserabgabe auf das 1,22 fache gesteigert.

Durch den Übergang vom Schatten des 20° warmen Zimmers in einen Raum, wo das Schattenthermometer 25°, das Solarthermometer 40° zeigt, wird beim Setzen in die Sonne die Kohlensäurebildung kaum beeinflufst (auf das 0,97 fache herabgesetzt), die Wasserabgabe auf das 5,17 fache gesteigert.

Unter Zuhilfenahme von Tabelle I lassen sich die Änderungen auch gegen andere Ausgangstemperaturen als 20° berechnen; vergl. das unter Tabelle II angegebene Berechnungsbeispiel.

Tabelle IV.

Einflufs der Besonnung im Freien.

Sonne im Freien				Änderung gegen: ›20° im Zimmer vor Sonne geschützt‹	
Temperatur		Bei Besonnung Gramm pro Std.			
Schatten	Sonne	CO_2	H_2O	CO_2	H_2O
0°	20°	30,0	36	$\frac{30,0}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{36}{18} = \frac{2,00}{1,00}$
›	30°	30,1	24	$\frac{30,1}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{24}{18} = \frac{1,33}{1,00}$
›	40°	29,2	18	$\frac{29,2}{24,5} = \frac{1,19}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{1,00}{1,00}$
›	50°	26,2	20	$\frac{26,2}{24,5} = \frac{1,07}{1,00}$	$\frac{20}{18} = \frac{1,11}{1,00}$
10°	15°	30,0	30	$\frac{30,0}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{30}{18} = \frac{1,67}{1,00}$
›	20°	30,1	24	$\frac{30,1}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{24}{18} = \frac{1,33}{1,00}$
›	25°	30,1	22	$\frac{30,1}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
›	30°	29,2	18	$\frac{29,2}{24,5} = \frac{1,19}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{1,00}{1,00}$
›	35°	28,0	22	$\frac{28,0}{24,5} = \frac{1,14}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
›	40°	26,2	20	$\frac{26,2}{24,5} = \frac{1,07}{1,00}$	$\frac{20}{18} = \frac{1,11}{1,00}$
›	50°	22,9	36	$\frac{22,9}{24,5} = \frac{0,94}{1,00}$	$\frac{36}{18} = \frac{2,00}{1,00}$
15°	20°	30,1	22	$\frac{30,1}{24,5} = \frac{1,22}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
›	25°	29,2	18	$\frac{29,2}{24,5} = \frac{1,19}{1,00}$	$\frac{18}{18} = \frac{1,00}{1,00}$
›	30°	28,0	22	$\frac{28,0}{24,5} = \frac{1,14}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
›	35°	26,2	20	$\frac{26,2}{24,5} = \frac{1,07}{1,00}$	$\frac{20}{18} = \frac{1,11}{1,00}$
›	40°	24,4	23	$\frac{24,4}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{23}{18} = \frac{1,28}{1,00}$

Fortsetzung zu Tabelle IV.

Sonne im Freien				Änderung gegen: »20° im Zimmer vor Sonne geschützt«	
Temperatur		Bei Besonnung Gramm pro Std.			
Schatten	Sonne	CO_2	H_2O	CO_2	H_2O
15°	45°	22,9	36	$\frac{22,9}{24,5} = \frac{0,94}{1,00}$	$\frac{36}{18} = \frac{2,00}{1,00}$
»	50°	21,6	51	$\frac{21,6}{24,5} = \frac{0,88}{1,00}$	$\frac{51}{18} = \frac{2,83}{1,00}$
20°	25°	28,0	22	$\frac{28,0}{24,5} = \frac{1,14}{1,00}$	$\frac{22}{18} = \frac{1,22}{1,00}$
»	30°	26,2	20	$\frac{26,2}{24,5} = \frac{1,07}{1,00}$	$\frac{20}{18} = \frac{1,11}{1,00}$
»	35°	24,4	23	$\frac{24,4}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{23}{18} = \frac{1,28}{1,00}$
»	40°	22,9	36	$\frac{22,9}{24,5} = \frac{0,94}{1,00}$	$\frac{36}{18} = \frac{2,00}{1,00}$
»	45°	21,6	51	$\frac{21,6}{24,5} = \frac{0,88}{1,00}$	$\frac{51}{18} = \frac{2,83}{1,00}$
»	50°	21,8	100	$\frac{21,8}{24,5} = \frac{0,89}{1,00}$	$\frac{100}{18} = \frac{5,56}{1,00}$
25°	30°	24,4	23	$\frac{24,4}{24,5} = \frac{1,00}{1,00}$	$\frac{23}{18} = \frac{1,28}{1,00}$
»	35°	22,9	36	$\frac{22,9}{24,5} = \frac{0,94}{1,00}$	$\frac{36}{18} = \frac{2,00}{1,00}$
»	40°	21,6	51	$\frac{21,6}{24,5} = \frac{0,88}{1,00}$	$\frac{51}{18} = \frac{2,83}{1,00}$
»	45°	21,8	100	$\frac{21,8}{24,5} = \frac{0,89}{1,00}$	$\frac{100}{18} = \frac{5,56}{1,00}$
»	50°	22,1	162	$\frac{22,1}{24,5} = \frac{0,90}{1,00}$	$\frac{162}{18} = \frac{9,00}{1,00}$
30°	35°	21,6	51	$\frac{21,6}{24,5} = \frac{0,88}{1,00}$	$\frac{51}{18} = \frac{2,83}{1,00}$
»	40°	21,8	100	$\frac{21,8}{24,5} = \frac{0,89}{1,00}$	$\frac{100}{18} = \frac{5,56}{1,00}$
»	45°	22,1	162	$\frac{22,1}{24,5} = \frac{0,90}{1,00}$	$\frac{162}{18} = \frac{9,00}{1,00}$
»	50°	22,3	216	$\frac{22,3}{24,5} = \frac{0,91}{1,00}$	$\frac{216}{18} = \frac{12,00}{1,00}$

Aus Tabelle IV ist beispielsweise ersichtlich:

Durch den Übergang vom 20° warmen Zimmer (Schatten) ins Freie, wo das Schattenthermometer ebenfalls 20°, das Sonnenthermometer 30° zeigen mag, wird beim Setzen in die Sonne die Kohlensäurebildung auf das 1,07 fache und die Wasserabgabe auf das 1,11 fache gesteigert.

Durch den Übergang vom 20° warmen Zimmer (Schatten) ins Freie, wo das Schattenthermometer nur 10°, das Sonnenthermometer aber 20° zeigen mag, wird beim Setzen in die Sonne die Kohlensäurebildung auf das 1,22 fache und die Wasserverdampfung auf das 1,33 fache gesteigert.

Durch den Übergang vom 20° warmen Zimmer (Schatten) ins Freie, wo das Schattenthermometer 25° und das Sonnenthermometer 40° zeigt, wird beim Setzen in die Sonne die Kohlensäurebildung auf das 0,88 fache herabgesetzt und die Wasserabgabe auf das 2,83 fache gesteigert.

Unter Zuhilfenahme von Tabelle I lassen sich die Änderungen auch gegen andere Ausgangstemperaturen als 20° berechnen; vergl. das unter Tabelle II angegebene Berechnungsbeispiel.

Tabelle V.

Vergleich vom Freien mit dem Zimmer bei Temperaturgleichheit, Aufenthalt beide Male im Schatten.

Temp. im Schatten	Im Schatten Gramm pro Stunde	
	Kohlensäure	Wasser
	Freie : Zimmer = x : 1	Freie : Zimmer = x : 1
10°	30,0 : 26,1 = **1,15** : 1,00	36 : 33 = **1,09** : 1,00
15°	30,1 : 24,6 = **1,22** : 1,00	24 : 22 = **1,09** : 1,00
20°	29,2 : 24,5 = **1,19** : 1,00	18 : 18 = **1,00** : 1,00
25°	26,2 : 24,5 = **1,07** : 1,00	20 : 31 = **0,65** : 1,00
30°	22,9 : 24,5 = **0,93** : 1,00	36 : 63 = **0,57** : 1,00
35°	21,8 : 22,6 = **0,96** : 1,00	100 : 100 = **1,00** : 1,00
40°	22,3 : 19,8 = **1,13** : 1,00	216 : 113 = **1,91** : 1,00

Aus Tabelle V ist beispielsweise ersichtlich:

Durch den Übergang vom Schatten des 20° warmen Zimmers in den Schatten der ebenfalls 20° warmen freien Luft wird die Kohlensäurebildung auf das 1,19 fache gesteigert und die Wasserverdampfung nicht beeinflufst.

Durch den Übergang vom Schatten des 10° warmen Zimmers in den Schatten der ebenfalls 10° warmen Aufsenluft wird die Kohlensäurebildung auf das 1,15 fache und die Wasserverdampfung auf das 1,09 fache gesteigert.

Durch den Übergang vom Schatten des 30° warmen Zimmers in den Schatten der ebenfalls 30° warmen Aufsenluft wird die Kohlensäurebildung auf das 0,93 fache herabgesetzt und die Wasserabgabe gleichfalls auf das 0,57 fache herabgesetzt.

Tabelle VI.

Vergleich vom Freien mit dem Zimmer bei Temperaturgleichheit, Aufenthalt beide Male in der Sonne.

Temperatur		In der Sonne Gramm pro Stunde	
Sonne	Schatten	Kohlensäure	Wasser
		Freie : Zimmer = x : 1	Freie : Zimmer = x : 1
10°	15°	30,0 : 25,1 = **1,20** : 1,00	30 : 27 = **1,11** : 1,00
10°	20°	30,1 : 24,6 = **1,22** : 1,00	24 : 22 = **1,09** : 1,00
15°	20°	30,1 : 24,1 = **1,25** : 1,00	22 : 18 = **1,22** : 1,00
15°	25°	29,2 : 24,5 = **1,19** : 1,00	18 : 18 = **1,00** : 1,00
15°	30°	28,0 : 25,0 = **1,12** : 1,00	22 : 23 = **0,96** : 1,00
20°	25°	28,0 : 25,0 = **1,12** : 1,00	22 : 23 = **0,96** : 1,00
20°	30°	26,2 : 25,2 = **1,04** : 1,00	20 : 31 = **0,65** : 1,00
20°	35°	24,4 : 25,3 = **0,96** : 1,00	23 : 43 = **0,53** : 1,00
20°	40°	22,9 : 24,5 = **0,93** : 1,00	36 : 63 = **0,57** : 1,00
25°	30°	24,4 : 25,3 = **0,96** : 1,00	23 : 43 = **0,53** : 1,00
25°	35°	22,9 : 24,5 = **0,93** : 1,00	36 : 63 = **0,57** : 1,00
25°	40°	21,6 : 23,7 = **0,91** : 1,00	51 : 93 = **0,55** : 1,00
30°	35°	21,6 : 23,7 = **0,91** : 1,00	51 : 93 = **0,55** : 1,00
30°	40°	21,8 : 22,6 = **0,96** : 1,00	100 : 100 = **1,00** : 1,00

Aus Tabelle VI ist beispielsweise ersichtlich:

Durch den Übergang aus der Sonne des Zimmers in die Sonne des Freien wird, bei 20° im Schatten und 30° in der Sonne (hier wie dort), die Kohlensäurebildung auf das 1,04fache gesteigert und die Wasserverdampfung auf das 0,65fache herabgesetzt.

Durch den Übergang aus der Sonne des Zimmers in die Sonne des Freien wird, bei 25° im Schatten und 40° in der Sonne (hier wie dort), die Kohlensäurebildung auf das 0,91fache herabgesetzt und die Wasserverdampfung ebenfalls, auf das 0,55fache, herabgesetzt.

Spezifische Blutveränderungen nach Harninjektionen.

I. Abhandlung.

Von

Prof. Dr. **A. Schattenfroh**,
Assistent am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.)

Die Frage nach der Identität der Blutalexine und der aus den polynukleären Leukocyten extrahierten baktericiden Stoffe, die von den verschiedensten Autoren schon in Angriff genommen wurde, kann in ihrem gegenwärtigen Stadium noch nicht als völlig gelöst gelten. Den mannigfachen Gründen, die für nahe Beziehungen der Leukocytenstoffe zur baktericiden Wirkung des Serums sprechen, stehen Thatsachen gegenüber, wie verschieden hohe Empfindlichkeit gegenüber höheren Temperaturen, abweichendes Verhalten der baktericiden Leukocytenstoffe in Bezug auf den Salzgehalt des Mediums, Fehlen der globuliciden Wirkung in den Zellextrakten u. a. — Dinge, die zwar an sich, wie ich bei einem andern Anlasse auseinandersetzte, nicht absolut beweiskräftig sind, die aber doch anderseits verbieten, vorzeitig mit Sicherheit die Leukocyten als Quelle der Serumschutzstoffe anzusprechen.

Wassermann hat versucht, auf einem neuen Wege sich einen Einblick in diese komplizierten Verhältnisse zu verschaffen.

Von der Voraussetzung ausgehend, daſs, falls Leukocyten und Blutserum dieselben baktericiden Stoffe enthalten, diese auch im Tierkörper ähnliche Reaktionen auslösen müssen, behandelte

er eine Anzahl von Meerschweinchen teils mit frischem Blutserum, teils mit Aufschwemmungen von Leukocyten.

Es stellte sich nun heraus, daſs nicht nur, wie aus den Untersuchungen anderer Autoren schon bekannt war, das Blut der mit Serum behandelten Tiere »Antialexine«, »Antikomplemente« (Ehrlich) enthielt, sondern daſs auch die Leukocyteninjektionen zu einer, wenn auch mäſsigen Anhäufung von solchen Stoffen im Blute der Versuchstiere führten.

Trotz dieser Thatsache, deren Richtigkeit nicht zu bezweifeln ist, erwies sich der Schluſs, den Wassermann hieraus gezogen, als zu weitgehend, indem Landsteiner und Donath zeigen konnten, daſs auch Injektionen von roten Blutkörperchen, Milch, Substanzen, die also nach unsern Vorstellungen mit baktericiden Stoffen nichts zu thun haben, zur Bildung von Antikomplementen führten. Nimmt man nun nicht zur Ehrlichschen Hypothese Zuflucht und supponiert man nicht darauf fuſsend allen Zellen und Säften eines Organismus, die zur Bildung von Antikomplement Veranlassung geben, eine gemeinsame haptophore Gruppe von bestimmter, gleicher Konstitution, das »Komplementoid« — den hitzebeständigen Anteil des Komplements — so gelangt man hinsichtlich der von den Autoren erhobenen Thatsache zu der ungezwungenen Auffassung, daſs die Bildung von Antikomplementen nichts für das Vorhandensein eines Komplements, eines Alexins in den injizierten Zellen oder Flüssigkeiten beweist, und daher im einzelnen Falle Wassermanns auch nicht für die Identifizierung der Schutzstoffe im Blutserum und in den Zellen herangezogen werden darf.

Eigene Untersuchungen.

Die Untersuchungen, die hier niedergelegt sind, sollten ebenfalls dazu dienen, die Unabhängigkeit der Antikomplementbildung vom Alexin zu zeigen und sind von vornherein einzig von dieser Voraussetzung ausgegangen. Ich habe zu diesem Zwecke Kaninchen Harn von Ziegen wiederholt subkutan injiziert und geprüft, ob schlieſslich das Serum dieser Tiere die starke lösende Wirkung von Ziegenserum auf Meerschweinchenblutkörperchen

irgendwie hemmte. Es war nicht der Fall; Bildung von Antialexin war in keiner Weise zu erkennen.

Für die Frage nach dem Zusammenhange zwischen Leukocyten und Blutalexinen sind daher diese Untersuchungen belanglos, und es geht nur hervor, dafs die Fähigkeit, Antikomplement zu erzeugen, doch nicht allen Zellen und Körperflüssigkeiten gleichmäfsig zukommt, sondern da Harn sich anders verhält, als Serum, Milch, rote und weifse Blutzellen, doch an bestimmte Eigenschaften der Muttersubstanzen gebunden ist, über die wir freilich heute noch nichts aussagen können.

In anderer Hinsicht aber haben die Harnversuche recht interessante Resultate ergeben, die die Veranlassung boten, die Untersuchungen weiter auszudehnen und mancher prinzipiellen Frage näher zu treten, deren Lösung gerade hier von vornherein wegen der besonderen Zusammensetzung des Harns nicht allzu schwierig erschien.

Im gegenwärtigen Zeitpunkte sind die Arbeiten noch bei weitem nicht als abgeschlossen anzusehen, und nur wegen des verhältnismäfsig umfangreichen Materials, das schon zur Verarbeitung gelangte, dann auch weil infolge äufserer Umstände vielleicht in der Fortsetzung derselben eine Verzögerung eintreten könnte, teile ich die bisherigen Resultate mit.

Die auffälligste Veränderung, die das Serum der mit Harn behandelten Tiere fast in allen Fällen aufweist, ist die in hohem Mafse ausgeprägte Fähigkeit desselben, die roten Blutkörperchen der Tierspecies, deren Harn verwendet wurde, aufzulösen. In geringerem Grade konnte auch unter bestimmten Verhältnissen ein ausgesprochenes Agglutinationsvermögen des Serums gegenüber den roten Blutkörperchen der betreffenden Tiergattung ermittelt werden. Ausschliefslich diese Blutveränderungen wurden bis jetzt einem eingehenderen Studium unterworfen, und beschränkt sich daher auch diese Mitteilung auf die Schilderung der einschlägigen Versuche.

Für dieselben wurden Kaninchen und Meerschweinchen verwendet, der Harn wurde von Menschen, Hunden, Ziegen und Pferden gesammelt. In den meisten Fällen wurde er unmittelbar

nach der Entnahme bezw. dem Auffangen injiziert, nur für bestimmte Zwecke bewahrte ich ihn im Kühlschranke längere Zeit auf. Auf besondere Kautelen bei der Harnentnahme brauchte im allgemeinen nicht Wert gelegt zu werden, da für die meisten Fälle eine Filtration des Harns durch ein vierfaches, steriles Papierfilter völlig genügte, ihn praktisch keimfrei zu machen. Nur wenn die Wirkung des unfiltrierten Harns erprobt werden sollte, mufste derselbe unter möglichst aseptischen Kautelen entnommen werden, da sonst leicht Eiterungen bezw. tödliche Infektionen bei den Versuchstieren entstanden.

In den mit Menschen- und Ziegenharn angestellten Versuchen wurde stets von derselben Person bezw. demselben Tiere der Harn verwendet, in jenen Fällen, in denen Hunde- und Pferdeharn in Anwendung kamen, von beliebigen Versuchstieren Harn entnommen. Die Injektionen erfolgten 5- bis 12 mal in 2- bis 8 tägigen Intervallen, und zwar wurden bei Meerschweinchen gewöhnlich 4 bis 5 ccm, bei Kaninchen 10 bis 30 ccm subkutan injiciert. Abgesehen von zufälligen Eiterungen, die bei filtrierten Harnen, wie erwähnt, leicht vermeidbar waren, konnten schädliche Wirkungen auch bei gröfseren Dosen nicht wahrgenommen werden, insbesondere fehlten als Giftwirkung zu deutende Erscheinungen bei den Versuchstieren vollständig.

Die Untersuchung des Blutserums erfolgte in der üblichen Weise, indem Proben in der feuchten Kammer und im Röhrchen angesetzt und durch 24 Stunden bei 37° C. beobachtet wurden; geprüft wurden sowohl defibriniertes Blut als auch die gewaschenen roten Blutkörperchen und zwar sowohl im frischen Serum, als auch im gelagerten bezw. inaktivierten; in letzterem Falle eventuell nach Zusatz von frischem Serum derselben Tierspecies. Bevor ich mich zur Beschreibung der einzelnen Versuche wende, möchte ich noch bemerken, dafs ich mich stets vor Beginn der Injektionen überzeugte, wie sich das Serum der Tiere in Bezug auf Lösung und Agglutination der in Betracht kommenden Blutkörperchen von vornherein verhielt. Es ist dies keine überflüssige Vorsichtsmafsregel. Die einzelnen Individuen verhalten sich in Bezug auf ihr natürliches Agglu-

tinations- und Lösungsvermögen viel verschiedener, als man nach den bisherigen Erfahrungen annehmen sollte. Insbesonders ist bei Kaninchen das Lösungsvermögen für Ziegenblut, wie das Agglutinationsvermögen für Menschenblut ein wenig gleichmäſsiges, noch mehr schwanken bei Meerschweinchen Agglutination für Pferde- und Menschenblut, Hämolyse für Pferdeblut.

Sind also die Versuchsreihen nicht sehr groſs, so kommt man, wenn man nicht vorher die natürlichen Verhältnisse eingehend prüft, leicht zu falschen Resultaten, oder wenigstens zu Unregelmäſsigkeiten, die den Versuch sehr stören.

Versuche mit Hundeharn.

Im ganzen wurden 4 Kaninchen mit Hundeharn behandelt, und zwar zwei mit nicht filtriertem, zwei mit filtriertem.

Die Untersuchung des Blutserums sämtlicher Tiere zu Beginn des Versuchs hatte ergeben, daſs es Hundeblutkörperchen weder löste noch agglutinierte. Es ist dies das normale Verhalten bei Kaninchen, namentlich wird es höchst selten angetroffen, daſs Blutserum von nicht vorbehandelten Tieren Hundeblutkörperchen nennenswert agglutiniert.

Schon nach drei Injektionen waren, wie aus der Ohrvene entnommene Blutproben erkennen lieſsen, Hämolysine und Agglutinine nachweisbar, deren Menge nach weiteren Injektionen sich ganz wesentlich steigerte, wenngleich der absolute Titre der hämolytischen Wirkung sich auch später nicht besonders hoch erhob.

Eine Beobachtung möchte ich hier nicht unerwähnt lassen. Von einem der vier Kaninchen war kräftig hämolytisches Serum, mit einigen Tröpfchen Chloroform versetzt, in einer mit einem Wattepfropf verschlossenen Eprouvette aufbewahrt worden. Nach vier Wochen wirkte das Serum, selbst nach einstündigem Erwärmen auf 64° C. und ohne neuerlichen Zusatz von frischem Serum intensiv hämolytisch auf Hundeblut, während Ziegen- und Menschenblut nicht im geringsten beeinfluſst wurden. Die Wirkung auf die Hundeblutkörperchen war viel

stärker als früher im aktiven Serum und so intensiv, daſs in der Kälte groſse Mengen derselben in wenigen Minuten aufgelöst wurden.

Es werden gegenwärtig im Institute Versuche angestellt, die sich mit der Klärung dieses merkwürdigen Verhaltens beschäftigen.

Kaninchen I.

1470 g. Blutserum löst nicht und agglutiniert nicht Hundeblut, löst Ziegenblut ziemlich kräftig (1 ccm Serum — 0,1 ccm defibrin. Ziegenblut in einer Stunde).

21. X. 1901 15 ccm Hundeharn, nicht filtriert; 25. X. starker Tumor an der Injektionsstelle, 11 ccm Harn, 28. X. 10 ccm Harn, 31. X. 20 ccm, 5. XI. 25 ccm.

Am 7. XI. wurde das Tier durch Entbluten aus den Carotiden getötet. Das Serum agglutinierte Hundeblut noch in Verdünnung von 1 : 12; 1 ccm löste fünf Tropfen defibr. Hundeblutes in zwei Stunden auf.

Bei diesem Tier wurde das oben erwähnte seltsame Verhalten des Chloroformserums konstatiert.

Kaninchen II.

1390 g. Serum löst Hundeblut nicht, löst kräftig Ziegenblut, mäſsig stark Menschenblut (1 ccm Serum in zwei Stunden 0.01 ccm defibr. Blut), ziemlich stark Pferdeblut.

21. X. 1901 15 ccm filtrierter Hundeharn. 25. X. keine Injektionsgeschwulst, 10 ccm Harn, 26. X. 10 ccm, 31. X. 20 ccm, 5. XI. 25 ccm, 12. XI. 25 ccm, 19. XI. 30 ccm, 27. XI. 30 ccm, 3. XII. 30 ccm.

Am 7. XI. Blutentnahme aus dem Ohre. 1 ccm Serum löst 0,1 ccm defibr. Hundeblut in 1 1/2 Stunden, agglutiniert auch Hundeblut kräftig. Löst Menschen-, Ziegen- und Pferdeblut nicht stärker als früher.

Am 4. XII. Entbluten des Tieres. 1 ccm Serum löst 4 Tropfen defibr. Hundeblutes, agglutiniert dasselbe auch kräftig (1 : 9). Löst Ziegenblut ebensowenig wie früher, doch deutlich stärker Menschenblut (1 ccm in zwei Stunden 0,07 ccm Blut). Letztere Thatsache spricht gegen die strenge Specifität der Reaktion; sie wurde bisher noch nicht weiter verfolgt.

Kaninchen III.

1500 g. Serum löst Hundeblutkörperchen nicht, Ziegenblut stark, ebenso Pferdeblut (1 ccm zwei Tropfen in wenigen Minuten), löst schwach Menschenblut.

21. X. 15 ccm nicht filtrierter Hundeharn, 26. X. (nekrotisierender Tumor an der Injektionsstelle) 20 ccm, 31. X. 20 ccm, 5. XI. 25 ccm.

Am 7. XI. Blutentnahme aus der Ohrvene. 1 ccm löst drei Tropfen Hundeblut in einer Stunde, agglutiniert sehr kräftig.

Kaninchen IV.

1820 g. Serum löst Hundeblut in sehr geringem Grade (1 ccm — 0,02 ccm defibr. Blut), Pferdeblut mäfsig stark; agglutiniert Hundeblutkörperchen gar nicht.

10. III. 1902 20 ccm filtrierter Hundeharn; 15. III, 18. III., 26. III., 29. III., 2. IV., 10. IV. je 25 ccm Harn.

Am 12. IV. entblutet. Serum löst kräftig Hundeblut (1 ccm 6 Tropfen defibrin. Blut), agglutiniert Hundeblutkörperchen noch in einer Verdünnung von 1 : 15. Löst Pferdeblut nicht stärker als vor den Injektionen. Ziegenblutkörperchen werden gar nicht agglutiniert.

Versuche mit Ziegenharn.

Dieselben ergaben hinsichtlich der Hämolyse ein analoges Resultat wie die mit Hundeharn angestellten Versuche. Bemerkenswert ist, dafs das Blut der meisten Kaninchen von vornherein starke hämolytische Kraft gegenüber dem Ziegenblut besitzt; die Auswahl der Tiere für die Versuche ist daher, da es sich doch empfiehlt, nur Tiere mit schwachem natürlichen Lösungsvermögen zu verwenden, mühsam und zeitraubend. Nach langem Suchen konnten vier Kaninchen ausfindig gemacht werden, deren Serum nur wenig hämolytisch wirkte.

Während die spezifisch hämolytische Wirkung sehr kräftig zum Vorschein kam, fehlte eine Agglutination der Ziegenblutkörperchen durch das Harnserum vollständig. Ich habe die Versuche mit konzentriertem, und im Hinblicke auf die Landsteinerschen Versuche über die Wirkung der Antipräcipitine und Antiagglutinine mit in den verschiedensten Verhältnissen verdünntem Serum angestellt, die Resultate blieben stets negativ.

Dieses Fehlen der Agglutinationswirkung beweist einmal, dafs die Hämoagglutinine von den Hämolysinen verschiedene Substanzen sind, was mir nach den bisherigen Arbeiten noch nicht völlig sicher schien. Dann wird durch die Thatsache, dafs Hämolyse ohne vorausgegangene Agglutination erfolgt, die Baumgartensche Hypothese über den Mechanismus der Hämolyse widerlegt. Baumgarten schreibt die Auflösung der roten Blutkörperchen in einem spezifisch hämolytischen Serum bekanntlich dem Einflufse der anisotonischen Lösung

auf die durch den Immunkörper agglutinierten roten Blutkörperchen zu. Sprechen nun schon eine Reihe von Experimenten gegen diese einfache physikalische Auslegung der spezifischen Hämolyse, u. a. die von Gruber erhobene Thatsache, dafs zur Lösung präparierter roter Blutzellen minimale Mengen von frischem Serum (0,01 ccm) genügen, so scheint sie mir völlig unzureichend zu sein für den Fall, als Agglutinine überhaupt fehlen.

Injiziert man Kaninchen Ziegen*blut*, so sind schon nach wenigen Injektionen im Serum spezifische Agglutinine gebildet.

Der Kaninchenkörper reagiert daher prompt auf die agglutinogenen Stoffe der Ziege. Es ist deshalb die Annahme gerechtfertigt, dafs dieselben im Ziegenharne fehlen, und dafs nur die Muttersubstanzen der Hämolysine sich in demselben finden.

Im Anschlufse an die Kaninchenversuche konnte auch an vier Meerschweinchen gezeigt werden, dafs spezifische Hämolysine durch Ziegenharninjektionen entstehen. Der Meerschweinchen-Versuch bietet den Vorteil, dafs die Wahl der Tiere wegen des schwächeren natürlichen Lösungsvermögens ihres Serums für Ziegenblut sich einfacher gestaltet. Auch im Meerschweinchenkörper entstehen durch die Ziegenharninjektionen keine Agglutinine.

Kaninchen I.

1390 g. Serum löst schwach Ziegenblut (1 ccm löst 0,08 ccm defibr. Blut in zwei Stunden).

6 Injektionen von je 5 bis 30 ccm nicht filtrierten Ziegenharns. 3 Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen. Serum löst kräftigst Ziegenblut (1 ccm — 0,75 ccm in $1\frac{1}{2}$ Stunden). *Nicht die geringste Agglutination.*

Kaninchen II.

Analog wie I behandelt. 4 Tage nach der letzten Injektion entblutet; Serum löst intensiv Ziegenblutkörperchen (1 ccm — 1 ccm in $1\frac{1}{4}$ Stunden).

Kaninchen III.

1680 g. Serum löst Ziegenblut mäfsig stark (1 ccm — 0,07 ccm Blut in $1\frac{1}{2}$ Stunden nicht völlig).

6. XI. 1901 13 ccm nicht filtrierter Ziegenharn; 10. XI. 12 ccm filtrierter Ziegenharn, 12. XI., 18. XI., 25. XI., 28. XI. je 30 ccm Harn.

3. XII. Tier entblutet. Serum löst kräftigst Ziegenblut (1 ccm — 0,5 ccm Blut in $1^1/_2$ Stunden); agglutiniert nicht. Löst nicht Hundeblut, sehr mäfsig Menschenblut.

Kaninchen IV.

1380 g. Serum löst Ziegenblut mäfsig stark (1 ccm — 0,06 ccm Blut). Agglutiniert gar nicht. Löst rasch Pferdeblut, nicht Hundeblut.

6. XI. 10 ccm filtrierter Ziegenharn, 11. XI. 20 ccm filtrierter Harn, 22. XI., 18. XI., 25. XI., 28. XI. je 30 ccm filtrierter Harn.

4. XII. entblutet. Serum löst nicht Hundeblut, löst sehr kräftig Ziegenblut (1 ccm — 0,9 ccm Blut). Agglutiniert nicht Ziegenblutkörperchen.

Meerschweinchen I.

Serum löst Menschenblut nicht, Pferdeblut mäfsig stark, Ziegenblut sehr schwach; agglutiniert stark Menschenblut.

25. XI. 5 ccm filtrierter Ziegenharn, 28. XI. 5 ccm filtrierter Harn, 2. XII. 8 ccm, 7. XII. 10 ccm Harn, 12. XII. Blutentnahme. Serum stark hämolytisch (1 ccm — 0,7 ccm Blut); agglutiniert nicht Ziegenblut. Löst nicht Menschenblut.

Meerschweinchen II.

Serum löst nicht Ziegenblut, Pferdeblut schwach.

25. XI. 5 ccm filtrierter Ziegenharn, 28. XI. 5 ccm, 2. XII. 8 ccm, 7. XII. 10 ccm. 10. XII. getötet.

Serum wirkt wie vom Meerschweinchen I.

Meerschweinchen III und IV.

zeigen von vornherein ein für Ziegenblut fast unwirksames Serum. Jedes der Tiere erhält je 30 ccm filtrierten Harns in 4 Injektionen.

4 Tage nach der letzten Injektion zeigt das Serum der beiden Tiere intensive hämolytische Wirkung auf Ziegenblut (1 ccm löst 0,6 bezw. 0,5 ccm Blut in 45 Minuten).

Versuche mit Pferdeharn.

Diese, an einer gröfseren Anzahl von Meerschweinchen und zwei Kaninchen angestellten Experimente ergaben das bemerkenswerte Resultat, dafs in Bezug auf Hämolyse und Agglutination die Pferdeharninjektionen völlig wirkungslos waren. Es wurden in der Annahme, dafs vielleicht nur sehr kleine Mengen der reaktionsfähigen Stoffe im Pferdeharn normalerweise sich finden, die Injektionen lange Zeit fortgesetzt, ohne dafs auch nur die geringsten Blutveränderungen konstatiert werden konnten. Da die Kontrollversuche mit Pferdeblutkörperchen ergaben, dafs schon nach drei Injektionen reichlich Hämolysine und Agglutinine im

Serum der vorbehandelten Meerschweinchen nachweisbar sind, ist wohl — in analoger Weise wie für die agglutinogenen Substanzen der Ziege — die Annahme gerechtfertigt, dafs der Pferdeharn frei von den Muttersubstanzen der Agglutinine und Hämolysine ist. Mit Rücksicht auf dieses abweichende Verhalten des Pferdes sollen demnächst eingehende Untersuchungen angestellt werden, wie sich das Pferde**serum** in Bezug auf die Bildung der Immunkörper im Meerschweinchen und Kaninchen verhält. — Das natürliche Agglutinations- und Lösungsvermögen des Meerschweinchen- und Kaninchenserums für Pferdeblut ist ein sehr ungleichmäfsiges, insbesondere trifft man erhebliche Unterschiede hinsichtlich der Agglutination.

Kaninchen I.

1300 g. Serum löst fast nicht Pferdeblut; 10 Injektionen von im ganzen 280 ccm Pferdeharn. 6 Tage nach der letzten Injektion entblutet. Serum löst Pferdeblut eher schwächer als vor den Injektionen und agglutiniert auch gar nicht die Blutkörperchen.

Kaninchen II.

1800 g. Serum löst schwach Pferdeblut (1 ccm — 0,04 ccm in 2 Stunden).

8. I. 1902 10 ccm nicht filtrierten Pferdeharns, 12. I. (starke, empfindliche Schwellung an der Injektionsstelle) Injektion von 25 ccm Harn, 18. I., 24. I., 27. I., 1. II., 5. II., 10. II., 18. II. je 30 ccm nicht filtrierten Pferdeharns, 20. II. entblutet. Das Serum löst gar nicht Pferdeblut, agglutiniert die Blutkörperchen auch nicht im geringsten.

Meerschweinchen I.

Serum agglutiniert kräftig Menschenblutkörperchen, löst kräftig Ziegenblut, löst Pferdeblut mäfsig stark (1 ccm — 0,03 ccm Blut in 1 Stunde).

25. XI. 5 ccm filtrierten Pferdeharns, 28. XI. 5 ccm Harn, 3. XII. 7 ccm Harn, 5. XII. 8 ccm, 11. XII. 10 ccm, 12. XII. entblutet. Löst sehr schwach Pferdeblut (1 ccm — 0,01 ccm Blut in 2 Stunden), agglutiniert nicht.

Meerschweinchen II.

Serum löst Ziegen- und Pferdeblut fast gar nicht. 26. XI. 5 ccm, 28. XI. 5 ccm, 3. XII. 7 ccm, 5. XII. 8 ccm, 10. XII. 8 ccm; 13. XII. wird das Tier entblutet. Serum löst und agglutiniert gar nicht Pferdeblut und Ziegenblut.

Meerschweinchen III—VII.

5 Meerschweinchen, im ganzen mit je 45 ccm filtrierten Pferdeharns vorbehandelt. Nach 3 Wochen löst und agglutiniert das Serum keines Tieres Pferdeblut.

Versuche mit Menschenharn.

Wegen der bequemen Beschaffung des Materials sind die Versuche mit Menschenharn am weitesten ausgedehnt worden. Nicht nur, dafs, wie für die andern untersuchten Harne, die schlichten Thatsachen festgestellt wurden, es wurde auch der Versuch gemacht, die im Menschenharne vorfindlichen lysogenen Substanzen näher zu charakterisieren. In letzterer Beziehung konnten bisher wenigstens einige Anhaltspunkte gewonnen werden, die weitere Fortschritte in nahe Aussicht stellen.

Was zunächst die Entstehung der spezifischen Lysine und Agglutinine betrifft, so ist hervorzuheben, dafs zwar erstere wieder rasch und reichlich sich bilden, und schon nach wenigen Injektionen in solcher Menge angetroffen werden, wie man sie nur selten nach Blutinjektionen zu sehen gewohnt ist, dafs jedoch Agglutininbildung anscheinend ebenso wie nach den Injektionen mit Ziegenharn ausbleibt. Mit Bestimmtheit kann ich dies für das Meerschweinchen behaupten, doch auch beim Kaninchen scheint es mir wahrscheinlich zu sein, dafs Agglutinine nicht entstehen.

Ich vermutete anfangs das Gegenteil, konnte mich aber im weiteren Verlaufe der Versuche nicht mehr einwandfrei hiervon überzeugen, da das starke natürliche Agglutinationsvermögen für Menschenblut, das vielen Kaninchen zukommt, bei der Verfolgung dieser Thatsache stets störte.

Ich führe zunächst die Protokolle jener Versuche an, die mich zuerst über die Bildung von Hämolysinen belehrten.

Kaninchen I.

1490 g. Serum agglutiniert deutlich Menschenblutkörperchen, löst Menschenblut fast gar nicht. 1. VII. 1901 10 ccm nicht filtrierten Menschenharns, 5. VII. 25 ccm, 10. VII. 30 ccm, 12. VII., 14 VII., 20. VII. je 25 ccm Harn.

22. VII. Blut aus der Ohrvene untersucht. Serum löst sehr stark Menschenblut (1 ccm — 1 ccm defibr. Blut in 2 Stunden), löst nicht Ziegenblut, nicht Pferdeblut. Das Tier bleibt 2 Monate ohne weitere Injektionen. Am 4. X. wird eine Blutuntersuchung vorgenommen, die ergibt, dafs das Serum nur mehr schwach hämolytisch wirkt. Nach neuerlichen Harninjektionen nimmt das hämolytische Vermögen bald wieder zu, erreicht jedoch nicht mehr die frühere Höhe.

Kaninchen II.

1610 g. 15. VI. 1901 Injektion von 25 ccm nicht filtrierten Menschenharns, 18. VI. 15 ccm, 24. VI. 30 ccm, 1. VII., 9. VII., 11. VII. je 28 ccm Harn. 15. VII. wird das Tier entblutet. Das Serum löst kräftig Menschenblutkörperchen (1 ccm — 0,5 ccm defibr. Blut in 1 Stunde). Kräftige Agglutination (vermutlich schon vor der Behandlung vorhanden). Keine Lösung von Pferde- und Hundeblut.

Kaninchen III.

2070 g. Serum löst Menschenblut nicht auf. 24. X. 1901 Injektion von 10 ccm filtrierten Menschenharns, 28. X. 15 ccm, 2. XI. 30 ccm, 3. XI. 20 ccm. Am 7. XI. Blutentnahme aus dem Ohr. Serum löst schon ziemlich kräftig Menschenblut (1 ccm — 0,2 ccm Blut in 2 Stunden). Hundeblut wird nicht gelöst. 19. XI., 26. XI., 1. XII., 7. XII., 12. XII. weitere Injektionen von je 25 ccm filtrierten Harns. Am 20. XII. Tier entblutet. Serum hochgradig spezifisch hämolytisch (1 ccm — 0,9 ccm Blut in 1 Stunde), löst Hundeblut sehr schwach, nicht Pferdeblut.

Kaninchen IV.

2400 g. Serum löst schwach Menschenblut (1 ccm — 0,02 ccm Blut). 24. X. 1901 10 ccm nicht filtrierten Harns, 28. X. 15 ccm, 2. XI. 30 ccm, 7. XI. 20 ccm. 7. XI. Blutentnahme aus dem Ohr. Serum löst kräftig Menschenblut (1 ccm — 0,3 ccm Blut). 12. XI., 19. XI., 26. XI., 1. XII., 7. XII., 12. XII. weitere Injektionen von je 25 ccm Harn. Blutserum wirkt dann intensiv hämolytisch (1 ccm Serum — 1,2 ccm Menschenblut in 1 Stunde).

Meerschweinchen I.

Serum löst Menschenblut sehr schwach, in Verdünnung 1 : 2 agglutiniert es die Menschenblutkörperchen gar nicht. Ziegenblut ziemlich rasch gelöst. 26. X. 1901 3 ccm filtrierter Menschenharn, 30. X., 4. XI., 9. XI., 12. XI. je 8 ccm filtrierten Menschenharns. Das Tier wird getötet. Sein Serum löst sehr stark Menschenblut (1 ccm — 0,6 ccm Blut); in Verdünnung 1 : 1, 1 : 2, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 15 agglutiniert es Menschenblutkörperchen nicht. Löst nicht Pferdeblut.

Meerschweinchen II.

Serum löst Menschenblut gar nicht, agglutiniert 1 : 8 noch deutlich. Löst Ziegenblut schwach. 6 Injektionen von nicht filtriertem Harn, im ganzen 40 ccm. Nach 3 Wochen kräftig hämolytisches Serum (1 ccm Serum — 0,7 ccm Blut); Agglutination 1 : 6 negativ.

Versuche über die Labilität der lysogenen Stoffe im Menschenharn.

Es wurden 2 Kaninchen gröfsere Mengen Menschenharns, der 5 Minuten auf 100° C. erhitzt worden war, injiziert. Nach 5 Injektionen von im ganzen je 115 ccm zeigte das Serum der vorbehandelten Tiere keine spezifisch hämolytische Wirkung,

weshalb ich anfangs vermutete, dafs zum Sieden erhitzter Harn seine lysogenen Stoffe vollständig einbüfst. Bei länger fortgesetzten Injektionen zeigte sich jedoch, dafs dies nicht der Fall ist, indem namentlich in einem Falle eine kräftige hämolytische Wirkung auf Menschenblutkörperchen zu konstatieren war. Ich führe im nachstehenden das Protokoll auszugsweise an:

Kaninchen, 1420 g. Serum löst nicht Menschenblut. 24. X. 1901 Injektion von 10 ccm zum Sieden erhitzten Harns, 28. X. 15 ccm, 2. XI. 30 ccm, 7. XI. 20 ccm, 10. XI. 40 ccm Harn. Am 12. XI. Blutentnahme aus dem Ohr. Das Serum löst gar nicht Menschenblutkörperchen, auch nicht Hundeblut.

Fortsetzung der Injektionen von je 30 ccm Harn am 12. XI., 19. XI., 26. XI., 1. XII. 7. XII., 12. XII. Am 13. XII. Entblutung des Tieres. Das Serum löst jetzt kräftig Menschenblut (1 ccm — 0,4 ccm Blut), gar nicht Pferde- und Hundeblut, schwach Ziegenblut.

Die Wirkung des erhitzten Harns setzt also nur später ein, erreicht aber, wenigstens gelegentlich, eine ganz beträchtliche Höhe. Immerhin ergaben vergleichende Versuche, dafs die Wirkung des nicht erhitzten Harns doch stets eine stärkere ist.[1])

Die Natur der lysogenen Stoffe wird durch die Erhitzungsversuche wenig charakterisiert. Es wäre möglich, dafs in der Siedehitze die spezifisch wirksamen Stoffe des Harns in den unlöslichen Zustand übergehen und im Körper des damit behandelten Tieres daher langsamer resorbiert werden und langsamer zur Wirkung kommen. Es könnten aber auch beim Kochen des Harns Spaltungsprodukte der wirksamen Substanz entstehen, die ihrerseits noch imstande sind, spezifische Hämolysine zu erzeugen, aber aus irgend einem Grunde langsamer zur Wirkung kommen. Die geringe Labilität der spezifischen Substanz zeigte sich auch darin, dafs einstündiges Erwärmen von Menschenharn

1) In der letzten Zeit ist es mir auch gelungen, mit erhitztem Hundeharn spezifische Hämolysine und Agglutinine im Serum eines Kaninchens zu erzeugen, wenngleich hier die Wirkung nicht sehr beträchtlich war, und hinsichtlich des Hämolysins sich darauf beschränkte, dafs das Serum, das vor den Injektionen pro Cubikcentimeter 0,01 ccm Hundeblut löste, nach Einverleibung von 140 ccm Hundeharns pro Cubikcentimeter 0,08 ccm Hundeblut zur Lösung brachte. Bemerkenswert ist, dafs weitere Injektionen von 140 ccm in diesem Falle eine Verstärkung der hämolytischen Wirkung nicht zur Folge hatten.

auf 60° und auf 80° C. nur sehr wenig die lysogene Wirkung desselben beeinträchtigte (s. u. Protokolle), und dafs auch wochenlanges Lagern des steril aufbewahrten Harns demselben nichts von seiner Wirksamkeit nahm.

Versuche über das Verhalten der lysogenen Substanz bei der Dialyse.

Bei der Analyse des Harns bietet die Dialyse desselben grofse Vorteile. Die anorganischen Salze und die Extraktivstoffe gehen durch die Membran, während die eiweifsähnlichen Stoffe, einige Salze organischer Säuren, teilweise die Farbstoffe u. a. nicht dialysieren. Die Dialyse bietet daher den Vorteil, die Harnbestandteile weitgehend von einander zu trennen. Hierbei sind die nicht dialysierenden Stoffe dem Gewichte nach beträchtlich in der Minderheit. Unterwirft man Menschenharn der Dialyse, und erprobt man an Meerschweinchen den Rückstand in bezug auf seine spezifische Wirkung, so nimmt man gegenüber dem frischen Harne eine fast unveränderte Wirksamkeit desselben wahr (s. u. Protokolle). In vereinzelten Fällen ist eine geringfügige Verminderung der Wirksamkeit zu sehen. Ein ganz exakter Vergleich des dialysierten und nicht dialysierten Harns ist, da der Gehalt der Flüssigkeiten an nicht spezifischen Stoffen ein ungleichmäfsiger ist, nicht gut möglich.

In der Regel wurde durch 5 Tage in einem grofsen Gefäfse gegen destilliertes Wasser dialysiert, das täglich gewechselt wurde. Der Rückstand, gewöhnlich etwas voluminöser als die ursprüngliche Harnmenge, war nach einer solchen Ausdehnung des Versuchs im nicht konzentrierten Zustande Cl frei; im stark eingeengten Harne waren kleine Mengen von Cl freilich noch nachweisbar. Meist war der dialysierte Harn völlig klar, selten leicht getrübt, offenbar herrührend von Ausscheidungen in der salzfreien Lösung. Zu den Injektionen wurde letztere ohne weitere Vornahmen verwendet.

Versuche über die Fällbarkeit bzw. Aussalzbarkeit der lysogenen Stoffe.

Wurde der dialysierte Harn im Vakuum zur Trockne eingedampft, so ergab sich ein Rückstand, der sich im Wasser zu einer klaren oder schwach trüben, doch leicht klar filtrierbaren, braunen Flüssigkeit wieder löste.

Mit Alkohol-Äther (1 Flüssigkeit, 10 Alkohol, 10 Äther) gefällt, gab dieselbe einen voluminösen, ebenfalls noch braun gefärbten Niederschlag, der gut dekantierbar war und mit weifslicher Farbe im Vakuum eintrocknete.

Diese Alkohol-Ätherfällung, die von den Chemikern schon seit langem studiert wurde, schliefst anscheinend regelmäfsig die wirksamen Harnsubstanzen ein. Wiederholte Versuche an Meerschweinchen ergaben nach Injektionen von mittleren Mengen des in Wasser gelösten Niederschlags eine beträchtliche Anhäufung von Hämolysinen im Serum der Versuchstiere.

Es mufs freilich hier hervorgehoben werden, dafs mit so kleinen Quantitäten wie sie den in den früheren Versuchen injizierten Harnmengen entsprechen, nicht experimentiert wurde, da es mir ratsam schien, vorerst nur prinzipiell die Frage nach der wirksamen Substanz in Angriff zu nehmen.

Die in Alkohol-Äther löslichen Anteile des dialysierten Harns waren dementsprechend, wie die Prüfung der Lösung nach dem Verjagen des Alkohols und Äthers ergab, im Tierexperimente unwirksam; die spezifischen Stoffe scheinen daher vollständig in den Niederschlag überzugehen.

Da die Lösung des Alkohol-Ätherniederschlags stets ziemlich stark braun gefärbt war, versuchte ich, die Harnfarbstoffe zu entfernen und behandelte zu dem Zwecke den dialysierten Harn vor dem Konzentrieren mit kleinen Mengen gut gereinigter Tierkohle.

Es gelang zwar, eine völlig farblose Lösung zu erzielen, die auch im eingeengten Zustande nur ganz schwach gelblich gefärbt war, doch war dieselbe im Meerschweinchenversuche völlig unwirksam. Die spezifischen Stoffe wurden daher in der Tierkohle quantitativ zurückgehalten; ob es sich hierbei um die Farbstoffe oder andere kolloidale Substanzen handelte, war hierdurch nicht

entschieden. Jedenfalls war dieser Weg nicht geeignet, eine Klärung der Frage anzubahnen.

Um die im Alkohol-Ätherniederschlage enthaltenen wirksamen Stoffe weiter zu isolieren, wurde versucht, durch Sättigen der Lösung desselben mit schwefelsaurem Ammon eine Trennung der Fällungen herbeizuführen.

In der That wird nur ein kleiner Teil der alkohol-ätherunlöslichen Substanzen dabei ausgesalzen, der gröfsere Teil bleibt in der Flüssigkeit gelöst. Die Farbstoffe des Harns gehen hierbei zum Teil in den Niederschlag, zum Teil bleiben sie in Lösung.

Das Resultat der physiologischen Prüfung der Aussalzung, bezw. der Lösung war nicht ganz eindeutig.

In einem Versuche war die Aussalzung, nach erfolgter Lösung und kurz dauernder Dialyse kräftig spezifisch wirksam, während das Filtrat, gleichfalls dialysiert, nicht die geringste Wirkung ausübte. In einem zweiten Versuche, in welchem nur die Fällung geprüft wurde, war eine schwache und bei den einzelnen Tieren auch nicht gleichmäfsige Wirkung derselben ersichtlich. Es legt dies den Gedanken nahe, dafs die wirksame Substanz vielleicht nur mechanisch der durch schwefelsaures Ammon bewirkten Aussalzung anhaftet und daher nicht regelmäfsig und gleichmäfsig gefällt wird.

Weitere Versuche müssen die Aufklärung über diesen Punkt bringen.

I. Meerschweinchenversuch.

Meerschweinchen 1.

Menschenblut nicht, Pferdeblut wenig gelöst. Injektion von 1 Stunde auf 60° erwärmtem, filtrierten Menschenharn (4 Injektionen von je 5 ccm).

Meerschweinchen 2.

Menschenblut nicht, Ziegenblut spurenweise, Pferdeblut wenig gelöst. Injektion von 23 ccm 1 Stunde auf 80° C. erwärmten Menschenharns (4 Injektionen).

Meerschweinchen 3.

Menschenblut nicht, Pferdeblut wenig gelöst. Injektion von 28 ccm durch 5 Tage dialysierten Harns (4 Injektionen).

Meerschweinchen 4.

Wie Meerschweinchen 3 behandelt.

Meerschweinchen 5.

Menschenblut sehr schwach gelöst. 4 Injektionen von je 5 ccm im Vakuum stark konzentrierten, dann wieder aufs Volumen gebrachten Harns.

Meerschweinchen 6.

Menschenblut wird sehr schwach gelöst. Injiziert wird eine wässerige Lösung bezw. Aufschwemmung des gut gewaschenen Niederschlags, der sich beim Konzentrieren des Harns im Vakuum abscheidet (zum gröfsten Teil aus Harnsäure bestehend). 4 Injektionen des Niederschlags aus je 100 ccm Harn.

Meerschweinchen 7.

Menschenblut nicht, Pferdeblut ziemlich reichlich gelöst. Injektion von 20 ccm Menschenharn (Kontrolle zu Meerschw. 1 und 2).

Meerschweinchen 8.

Menschenblut sehr schwach, Pferdeblut mäfsig stark gelöst. 4 Injektionen von je 5 ccm Harn (Kontrolle zu Meerschw. 3 und 4).

Alle Tiere werden entblutet und ihr Serum auf das Lösungsvermögen gegenüber Menschenblutkörperchen geprüft.

Das Serum von Meerschweinchen 1 löst 0,3 ccm defibr. Menschenblut, von 2: 0,25 ccm, 3: 0,25 ccm, 4: 0,35 ccm, 5: 0,35 ccm, 6 nur spurenweise, 7: 0,3 ccm, 8: 0,35 ccm Blut.

II. Meerschweinchenversuch.

Meerschweinchen 1.

810 g. 5 Injektionen von je 5 ccm durch 6 Tage dialysierten Menschenharns.

Meerschweinchen 2.

630 g. 5 Injektionen von je 5 ccm durch 6 Tage dialysierten Menschenharns.

Meerschweinchen 3.

705 g. 5 Injektionen von je 5 ccm dialysierten Harns, der durch Tierkohle völlig entfärbt wurde.

Meerschweinchen 4.

735 g. Wie Meerschweinchen 3.

Meerschweinchen 5.

440 g. 5 Injektionen von je 5 ccm dialysierten, durch Tierkohle entfärbten Harns, der im Vakuum auf $^1/_{20}$ des Volumens eingedampft wurde.

Sämtliche Tiere wurden entblutet, das Serum von 1 und 2 wirkt kräftig hämolytisch (1 ccm löst 0,4 bzw. 0,45 ccm defibr. Blut), 3, 4 und 5 zeigen keine Spur von Hämolysinbildung.

III. Meerschweinchenversuch.

Meerschweinchen 1.

Löst Menschenblut sehr schwach. 5 Injektionen von je 5 ccm durch 6 Tage dialysierten Menschenharns.

Meerschweinchen 2.

Löst Menschenblut nicht. Wie 1.

Meerschweinchen 3.

Löst Menschenblut sehr schwach. Wie 1.

Meerschweinchen 4.

Löst Menschenblut nicht, agglutiniert kräftig. 5 Injektionen von dialysiertem, im Vakuum konzentrierten Harn (je 5 ccm des auf $^1/_{20}$ eingedampften Harns).

Meerschweinchen 5.

Wie 4.

Meerschweinchen 6.

Löst Menschenblut mäfsig stark (1 ccm — 0,03 ccm defibrin. Blut). Wie 4.

Meerschweinchen 7.

Löst Menschenblut gar nicht. 5 Injektionen der alkoholisch-ätherischen Lösung nach Fällen des konzentrierten Harns mit Alkohol-Äther.

Meerschweinchen 8 und 9.

Wie 7 behandelt.

Meerschweinchen 10.

Löst Menschenblut nur spurenweise, 5 Injektionen des Alkohol-Ätherniederschlags aus dialysiertem Harne.

Meerschweinchen 11.

Löst Menschenblut nicht. Wie 10.

Meerschweinchen 12.

Löst Menschenblut sehr wenig. Wie 10.

Alle Tiere werden durch Aufschneiden der Carotiden getötet.

Das Serum von Meerschweinchen 1 löst pro ccm 0,25 ccm Blut in zwei Stunden, von 2: 0,4 ccm, von 3: 0,45 ccm, von 4 0,35 ccm, von 5 nicht geprüft, von 6: 0,3 ccm, von 7, 8, 9 nicht im geringsten, von 10: 0,3 ccm, von 11: 0,5 ccm, von 12: 0,4 ccm Blut. Nirgends spezifische Agglutination.

IV. Meerschweinchenversuch.

Meerschweinchen 1.

Löst Menschenblut nicht. 5 Injektionen des Alkohol-Ätherniederschlags aus dialysiertem, im Vakuum konzentrierten Harn.

Meerschweinchen 2 und 3.

Wie 1 behandelt.

Meerschweinchen 4, 5, 6.

Das Serum sämtlicher Tiere löst Menschenblut nur in sehr geringem Maſse. Injiziert mit der Lösung der schwefelsauren Ammonfällung aus der Lösung des Alkohol-Ätherniederschlags (5 Injektionen).

Meerschweinchen 7.

Löst Menschenblut gar nicht. 5 Injektionen des durch Dialyse fast salzfrei gemachten Filtrats der schwefelsauren Ammonfällung.

Meerschweinchen 8, 9.

Wie 7 behandelt.

Das Serum der entbluteten Tiere 1 löst pro ccm unvollständig 0,05 ccm, 2: 0,15 ccm, 3: 0,25 ccm, 4: 0,4 ccm, 5: 0,2 ccm, 6: 0,35 ccm, 7., 8., 9. weniger als 0,1 ccm Blut. Keine Agglutination.

V. Meerschweinchenversuch.

4 Meerschweinchen mit der Lösung der schwefelsauren Ammoniakfällung behandelt (4 Injektionen). Letztere war völlig klar, braun gefärbt, gab keine Eiweiſsfällungsreaktionen (Metallsalz, Ferrocyankalium), hingegen war die Millonsche Probe und die Adamkiewiczsche Reaktion positiv (Biuretreaktion negativ). Sämtlicher verwendeter Harn war bei der Dialyse bakterientrüb geworden.

Das Serum von Meerschw. 1 löste pro ccm 0,05 ccm Blut unvollständig, von 2: 0,1 ccm, von 3: 0,15 ccm, von 4: 0,2 ccm defibriniertes Menschenblut.

Versuch über den Einfluſs des Bakterienwachstums im Harn auf die lysogenen Substanzen.

Das zweifelhafte Resultat des zuletzt angeführten Versuches bezog ich anfangs auf das im Harn erfolgte Bakterienwachstum. Ich vermutete, daſs hierdurch, sei es ein Verbrauch, sei es eine Veränderung der lysogenen Stoffe herbeigeführt wurde. Um dies zu entscheiden, stellte ich noch eine Anzahl von Versuchen mit bakterientrübem Harn und mit einer Probe, die der Harnstoffgärung unterlegen war, an. Vor den Injektionen muſsten selbstverständlich die Bakterien getötet, bezw. entfernt werden, und wurde dies dadurch erreicht, daſs der Harn mit Chloroform intensiv geschüttelt und nach 24 stündigem Stehen durch Papierfilter filtriert wurde. Es war so in ausreichend

sicherer Weise möglich, den zersetzten Harn wieder keimfrei zu machen.

Um bakterientrüben Harn zu verschaffen, genügte es, denselben bei gewöhnlicher oder bei Bruttemperatur stehen zu lassen; ebenso benutzte ich zu diesen Versuchen Harn, der bei der Dialyse verunreinigt wurde.

Zum Zwecke der Einleitung der Harnstoffgärung war es am sichersten, frisch gelassenen Harn mit Gartenerde zu versetzen und in den Brutschrank zu stellen. Da trat nach kurzer Zeit ammoniakalische Gärung ein, die durch einige Tage anhielt.

Bei der Behandlung von Meerschweinchen mit bakterientrübem, bezw. vergorenem Harne — der im letzteren Falle bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Schwefelsäure abgesättigt wurde — erfuhr ich nun, dafs zwar Bakterienwachstum an sich, offenbar wenn keine weitgehenden Zersetzungen durch sie bewirkt wurden, die lysogene Wirkung des Harns nicht hemmte, dafs aber vergorener und nachträglich neutralisierter Harn in keiner Weise Hämolysine erzeugen konnte. Letzteres bestätigte sich auch für ein Kaninchen.

Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, dafs auch in letzterem Falle die lysogenen Stoffe nicht verändert wurden, sondern dafs begleitenden Schädigungen durch den vergorenen Harn es zugeschrieben werden mufs, dafs die Wirkung desselben ausblieb.

Meerschweinchen 1, 2, 3.

Mit 20 bezw. 30 und 42 ccm vergorenen Harns behandelt (4—6 Injektionen). Das Blutserum löste schliefslich nicht im geringsten Menschenblutkörperchen auf, auch nicht nach Zusatz von frischem Meerschweinchenserum.

Kaninchen.

1430 g. 5 Injektionen von im ganzen 78 ccm vergorenen Harns. Das Serum löst auch nicht spurenweise Menschenblut auf.

Meerschweinchen 4, 5, 6.

Mit Harn injiziert, der bei längerem Stehen (5 Tage) bakterientrüb geworden war. Die Tiere erhielten 25—48 ccm in 4 Injektionen. Das Serum derselben löste schliefslich pro ccm 0,3 bezw. 0,4 und 0,35 ccm Menschenblut in kürzester Zeit auf.

Meerschweinchen 7, 8.

Mit bakterientrübem, dialysiertem Harne injiziert. Nach 5 Injektionen von im ganzen je 52 ccm löste das Blutserum beider Tiere intensiv Menschenblutkörperchen auf (1 ccm — 0,6 bezw. 0,7 ccm).

Die Thatsache, dafs der Harn in vielen Fällen lyso-, bezw. agglutinogene Stoffe führt, läfst eine Reihe von Erklärungen hinsichtlich deren Ursprungs zu.

Von vornherein war die Möglichkeit gegeben, dafs die spezifischen Substanzen des Harns Zellen, Epithelien aus den Harnwegen entstammen, die normalerweise in nicht geringer Menge jedem Harne beigemengt sind. Durch die Feststellung, dafs wiederholt filtrierter Harn fast ebenso stark wirkt als nicht filtrierter, war die Annahme, dafs den Zellen in toto eine besondere Bedeutung zukomme, hinfällig. Doch wäre an eine noch im Körper erfolgende Auflösung der Zellen, die nebst andern Stoffen auch die spezifischen Muttersubstanzen in die Harnflüssigkeit überführte, zu denken. Durch das Experiment läfst sich übrigens dies kaum einwandfrei entscheiden.

Ebenso wenig wäre es auszuschliefsen, dafs zerfallende Nierenepithelien regelmäfsig dem Harne die lysogenen Stoffe zuführen. Der physiologische Zerfall derselben bei der Harnsekretion spielt zwar gewifs keine solche Rolle, wie beispielsweise der der Milchdrüsenepithelien für die Milch, doch findet ein solcher innerhalb gewisser Grenzen sicher regelmäfsig statt. Erwägt man nun, dafs sowohl Injektionen von Milch, als von Epithelien überhaupt (Dungern) zur Entstehung von Hämolysinen führen, so ist die Vermutung, dafs es sich auch bei der Harnwirkung um ähnliches handeln könne, gewifs nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen.

Gegen die Bedeutung der Epithelien aus den Harnwegen und der Niere spricht nun ein gewichtiges Argument, das Verhalten des Pferdeharns. Man kann gewifs nicht annehmen, dafs beim Pferde der Harn frei von den zelligen Beimengungen ist, der negative Befund verlangt daher eine andere Erklärung.

Am wahrscheinlichsten schien es, dafs die lysogenen Stoffe des Harns aus dem Blute stammen und die Niere einfach passieren.

Lysogene Stoffe hat man im Blutserum schon wiederholt nachgewiesen. So fand v. Dungern, dafs Injektionen von Hühnerserum bei Meerschweinchen, Tschistovitsch, dafs

Injektionen von Pferdeserum bei Kaninchen specifische Hämolysine erzeugen.

Eine Reihe negativer Befunde ist zweifellos, wie Morgenroth richtig hervorhebt, der mangelhaften Technik, die hierbei in Anwendung kam, zuzuschreiben. Prüft man nämlich das Blutserum der mit Serum vorbehandelten Tiere in der gewöhnlichen Weise auf spezifische Hämolysine, so kann man diese unter Umständen übersehen, indem die Antialexine (Antikomplemente), die gleichfalls gelegentlich in grofser Menge bei der Vorbehandlung mit Serum entstehen, im Versuche stören. Erst durch Absorption der Immunkörper durch die zugehörigen Blutkörperchen und Hinzufügen von frischem Serum nicht behandelter Kaninchen oder Meerschweinchen kann man sie nach Morgenroths Vorgehen sicher nachweisen. Auf diese Weise gelang es ihm, auch bei mit Ziegenserum injizierten Kaninchen positive Befunde zu erheben, was mir, da ich mich der üblichen Versuchsanordnung bediente, mifslungen war.[1])

Voraussetzung für die Annahme der Provenienz der spezifischen Harnsubstanzen aus dem Blutserum ist, dafs in jenen Fällen, in denen sich das Serum frei von lysogenen Stoffen zeigt, der Harn gleichfalls dieselben nicht enthält.

Da Morgenroth mitteilt, dafs durch Injektion von Rinderserum bei Kaninchen hämolytische Amboceptoren nicht erzielt werden konnten, prüfte ich noch, nachdem die mitgeteilten Untersuchungen bereits abgeschlossen waren, die Wirkung von Rinderharninjektionen bei Kaninchen.

Ich injizierte drei Kaninchen, deren Blutserum nicht im geringsten Rinderblutkörperchen löste oder agglutinierte, im ganzen je 180 ccm Rinderharn (5 Injektionen). Drei Tage nach der letzten Injektion wies das Serum sämtlicher Tiere starke hämolytische Eigenschaften gegenüber Rinderblutkörperchen auf; spezifische Agglutinine fehlten hier wie in den meisten früheren Versuchen.

---

1) Die Morgenrothschen Versuche beweisen die schon von Gruber erhobene Thatsache, dafs im kreisenden Blute gleichzeitig Alexin und Antialexin, letzteres sogar in überwiegender Menge, gebildet sein können.

Falls die Morgenrothschen Versuche richtig sind, das Serum des Rindes demnach frei bezw. arm an lysogenen Stoffen ist, wäre jedenfalls, soferne man überhaupt an dem Übertritt der spezifischen Substanzen aus der Blutflüssigkeit in den Harn noch festhalten will, an eine Anreicherung derselben im Nierenexkret, wie wir es für eine Reihe anderer Stoffe wissen, zu denken.

Durch neue Versuche mit Rinderserum, die ich demnächst vornehmen will, dürfte eine Klärung dieser Frage wohl erreicht werden können.

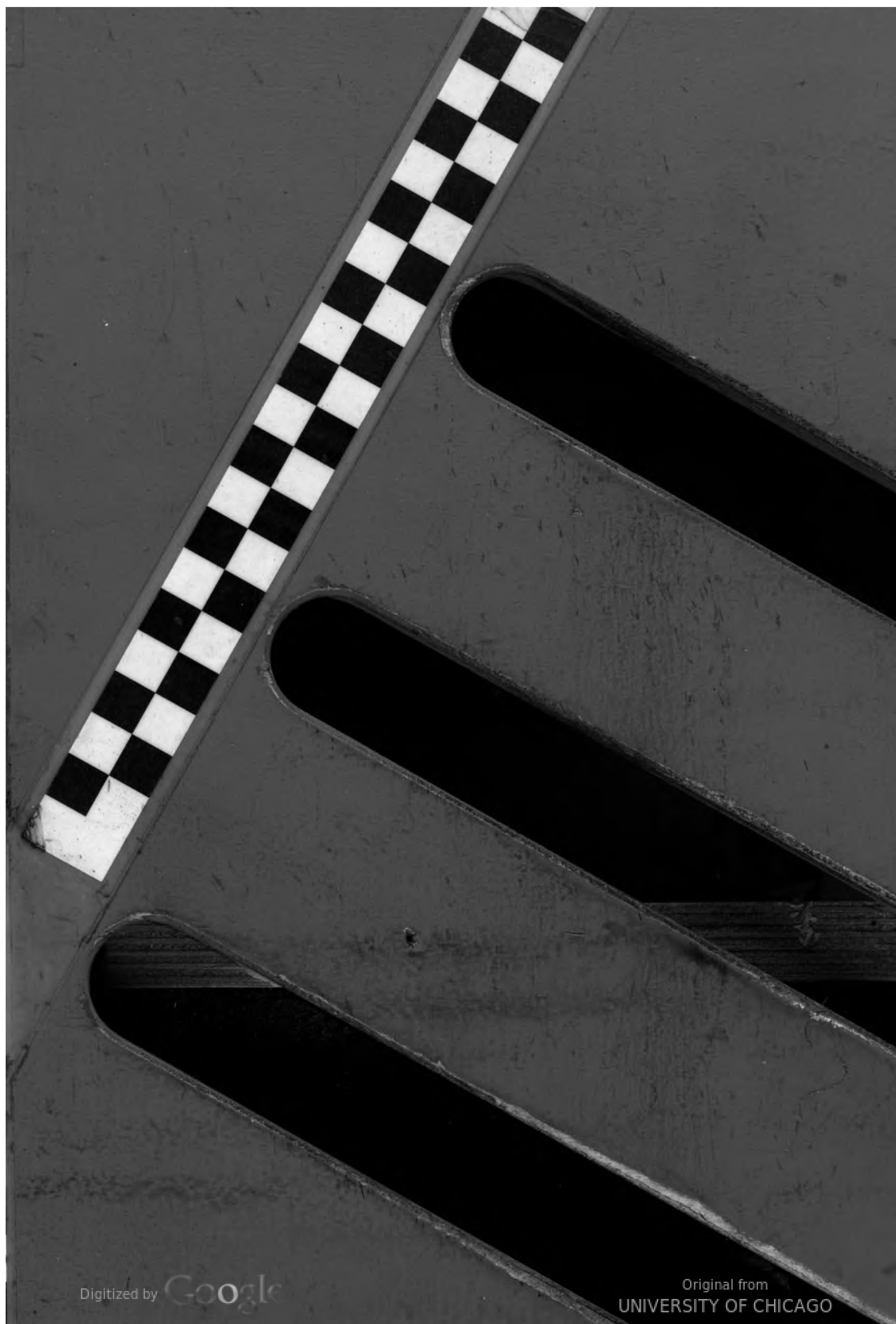
Fasse ich die bisherigen Resultate zusammen, so ergibt sich:

1. Durch Injektionen von Menschenharn, Ziegenharn und Rinderharn bei Kaninchen und Meerschweinchen, bezw. Kaninchen lassen sich spezifische Hämolysine im Blute der vorbehandelten Tiere erzeugen.
2. Injektionen von Hundeharn haben aufser der Erzeugung von Hämolysinen auch die Entstehung von Agglutininen bei Kaninchen zur Folge.
3. Pferdeharn ruft bei Meerschweinchen und Kaninchen weder Hämolysin- noch Agglutininbildung hervor.
4. Die lysogenen Stoffe des Menschenharns sind nicht dialysierbar, ertragen verhältnismäfsig hohe Temperaturen und sind durch Alkohol-Äther fällbar.
5. Bakterienwachstum im Harn läfst unter Umständen die lysogenen Stoffe desselben intakt.

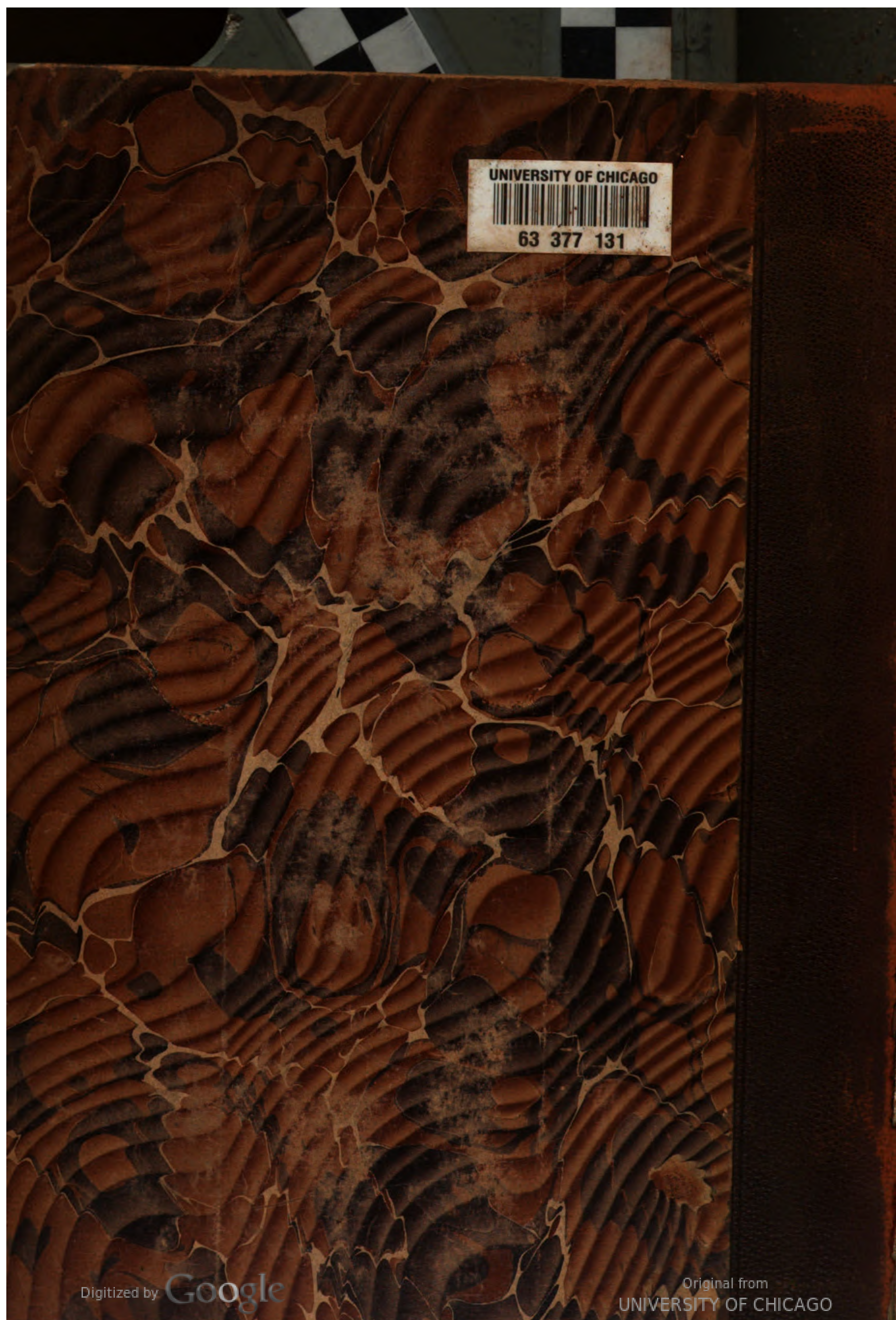
Litteratur.

Wassermann, Zeitschrift f. Hygiene, 1901.
Landsteiner und Donath, Wiener klin. Wochenschrift, 1901.
Morgenroth, Münchner mediz. Wochenschrift, 1902.
Baumgarten, Berliner klin. Wochenschrift, 1902.
Schattenfroh, Münchner med. Wochenschrift, 1901.


UNIVERSITY OF CHICAGO
63 377 131




UNIVERSITY OF CHICAGO
63 377 131


UNIVERSITY OF CHICAGO
63 377 131